

University of Groningen

Experimenteel Maagcarcinoom

Thomas, Siewert

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1970

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Thomas, S. (1970). *Experimenteel Maagcarcinoom*. [, Rijksuniversiteit Groningen]. [S.n.].

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

**EXPERIMENTEEL
MAAGCARCINOOM**

S. THOMAS

EXPERIMENTEEL MAAGCARCINOOM

STELLINGEN

I.

De verruiming van de maligniteitscriteria voor experimenteel opgewekte kliermaagtumoren door Sugimura en medewerkers is onvoldoende gefundeerd.

J. Nat. Cancer Inst. 44: 769, 1970.

II.

Het vlees- en vleeswarenbesluit en het kaasbesluit van de warenwet dienen zodanig te worden gewijzigd, dat het gebruik van nitraat en nitriet bij de bereiding van vleeswaren en van nitraat bij de bereiding van kaas niet meer wordt toegestaan.

III.

Aan de mogelijkheid om door transplantatie van een experimenteel opgewekte kliermaagtumor de maligniteit van het betreffende gezwel vast te stellen wordt onvoldoende aandacht besteed.

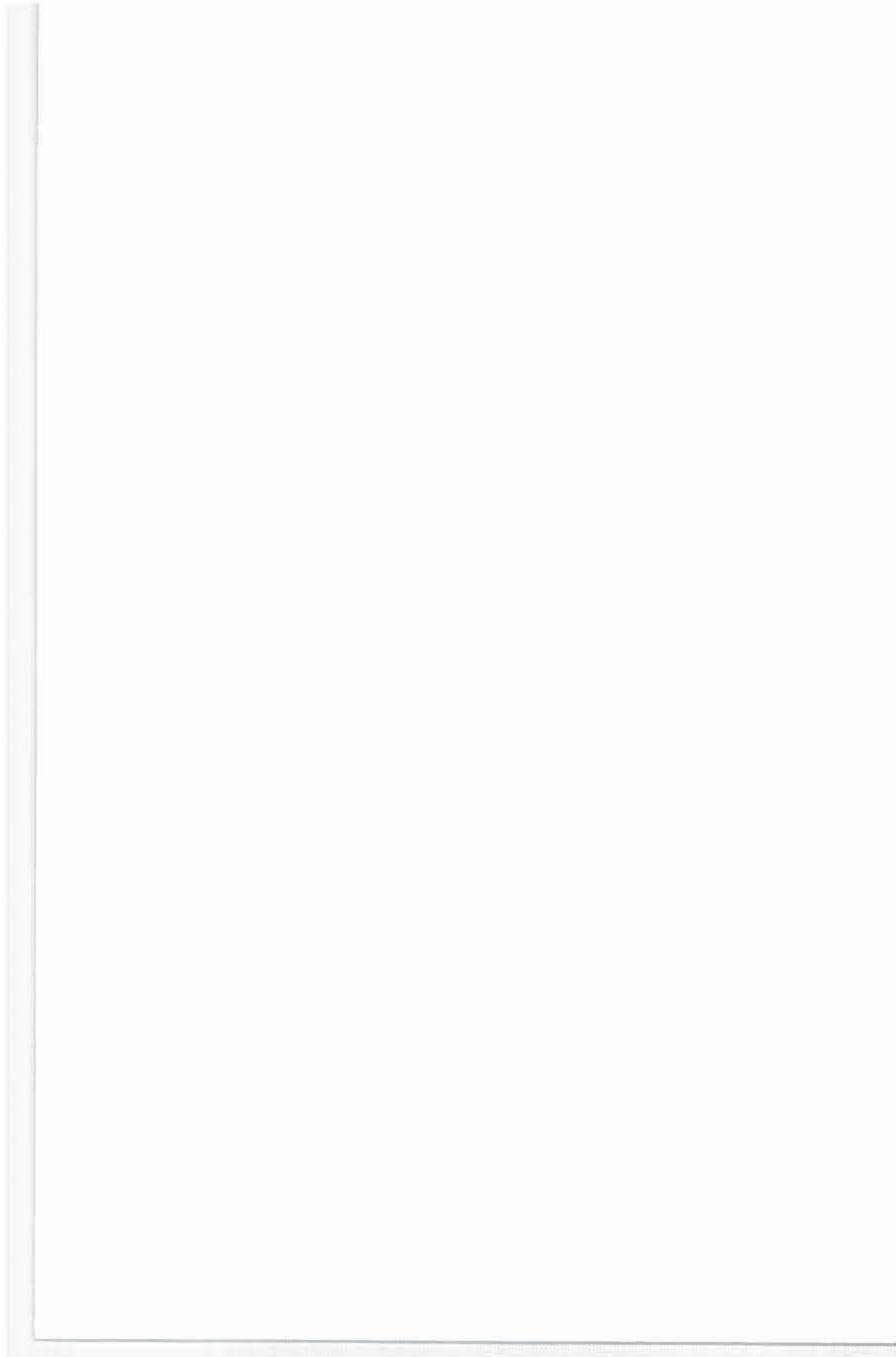
IV.

Bij het onderzoek naar de toxische werking van farmaca op de lever kan histochemisch en enzymhistochemisch onderzoek een waardevolle bijdrage leveren.

V.

De factoren welke de ontwikkeling van dermatoglyphen bepalen zijn eerder van mechanische dan van genetische aard.

J. Pediat. 75: 579, 1969.



VI.

De argumenten van Bohle en medewerkers voor een samenhang tussen lipoidnefrose en membraanuze glomerulonefritis zijn beslist onvoldoende.

Virchows Arch. A 347: 316, 1969.

VII.

De Landelijke Huisartsen Vereniging kan het vertrouwen, dat blijkens de uitslag van een door haar ingestelde enquête door het publiek in de huisarts wordt gesteld, een hechtere fundering geven door het instellen van een onderzoek naar de kwaliteit van de door haar leden verstrekte zorg.

VIII.

Bij patienten met een gemetastaseerd insulinoom komt een behandeling met streptozotocine in aanmerking.

Lancet II: 895, 1968.

IX.

Het invriezen en weer ontdooien van gefixeerd weefsel is, hoewel nadelig voor de morfologie, essentieel bij immunohistologie op electronmicroscopisch niveau.

X.

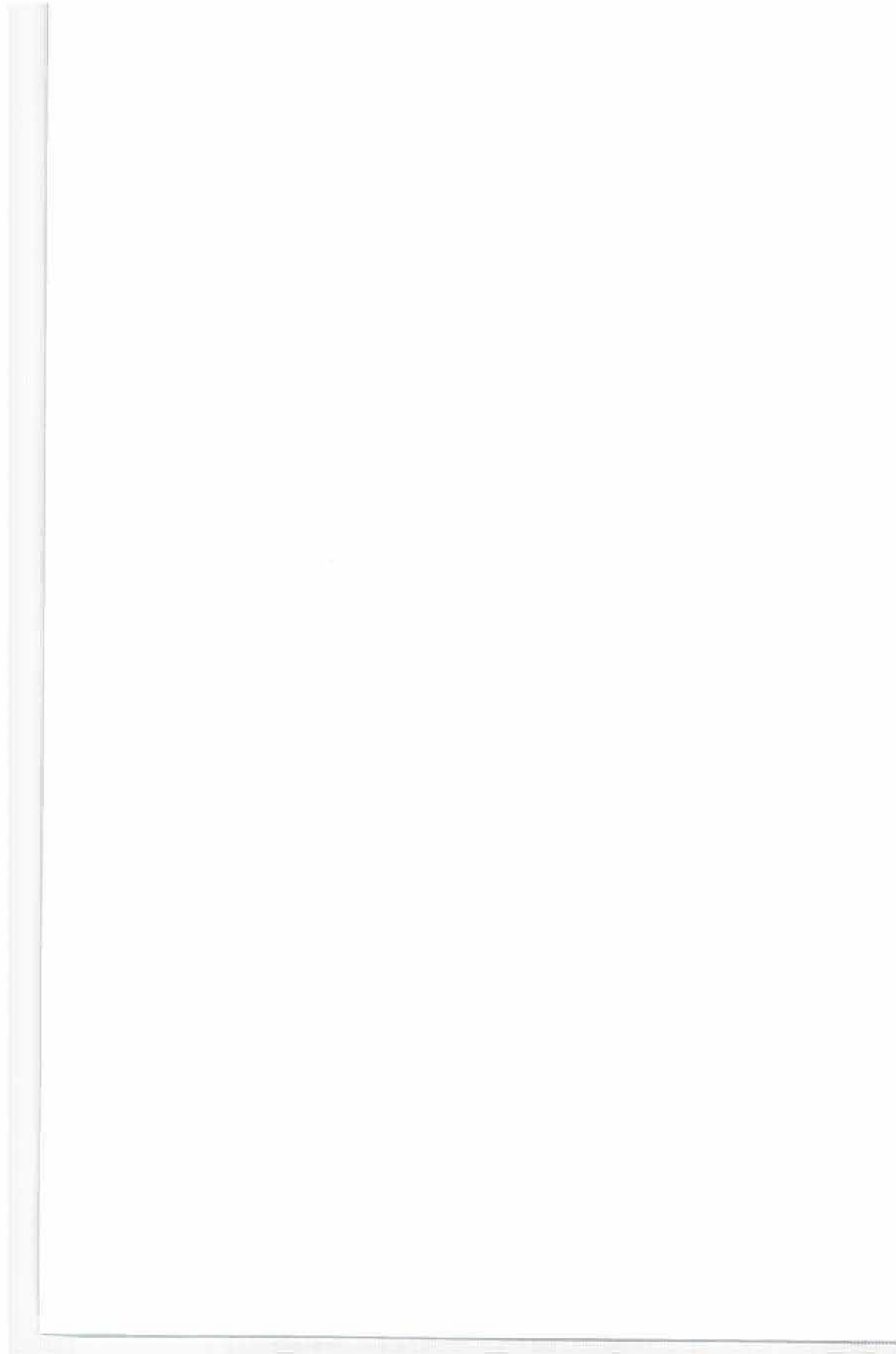
Een te hoog ijzergehalte van de lever is niet direct verantwoordelijk voor het ontstaan van cirrhose, hoewel de mogelijkheid van het gelijktijdig voorkomen het tegengestelde kan suggereren.

XI.

De gehuwde student kan zijn effectieve studietijd verlengen door vóór de afwas de aardappelkookpan te laten weken.

S. THOMAS

1 juli 1970.



RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN

Experimenteel maagcarcinoom

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van het doctoraat in de geneeskunde
aan de Rijksuniversiteit te Groningen
op gezag van de Rector Magnificus Dr. W. F. Dankbaar,
in het openbaar te verdedigen op woensdag 1 juli 1970
des namiddags te 2.45 uur precies

door

SIEWERT THOMAS

geboren te Groningen

1970

DRUKKERIJ VAN DENDEREN
GRONINGEN

Promotor: Prof. Dr. H. N. HADDERS
Co-referent: Dr. Ph. J. HOEDEMAEKER

*Aan mijn ouders
Voor Riekje*

Dit proefschrift werd bewerkt in het Pathologisch Anatomisch Laboratorium (Prof. Dr. H. N. Hadders en Prof. Dr. A. Arends) te Groningen met steun van Dr. Joh. Koudstaal en Dr. Ph. J. Hoedemaeker; Dr. R. Eibergen gaf daarbij enkele adviezen. Professor W. A. J. Crane (Sheffield) kindly edited the English version of the Summary as it was translated by Duifje Hoekstra-Eykelboom.

Technische hulp in de proefdierenstal werd verleend door de heren M. Venema en A. F. Jager.

Mevrouw S. S. Bánki-Neisingh verzorgde de paraffinecoupes.

De microfotografie werd verricht door J. J. Wachters, patholoog-anatoom.

De tekeningen werden vervaardigd door de heer D. Elzinga.

Enkele statistische adviezen werden verstrekt door H. J. Bronts, arts-statisticus van het Laboratorium voor Sociale Geneeskunde (Prof. Dr. K. J. van Deen) te Groningen.

Mej. B. Wassing verzorgde het typewerk.

INHOUD

Inleiding	1
Hoofdstuk I	
<i>Algemene oriëntatie over maagcarcinoom bij dieren</i> .	2
De anatomie van de maag van muis, rat, hamster en cavia	
Het voorkomen van spontane maagtumoren bij dieren	
In de literatuur beschreven methoden om maagcarcinomen op te wekken	
Hoofdstuk II	
<i>Chemische carcinogenese in de proefdiermaag</i> . .	7
Carcinogenen	
Experimenten waarbij kliermaagcarcinomen werden opgewekt	
Voormaagcarcinomen	
Conclusies	
Hoofdstuk III	
<i>Eigen onderzoek</i>	21
Materiaal en methoden	
Resultaten	
Conclusies	
Hoofdstuk IV	
<i>De genese van de gevonden maagafwijkingen</i> . .	34
Het ontstaan van een ulcus	
De traumatische slijmvlies sinus	
Gezwelvorming vanuit een „rustig” ulcus	
Tumorgroei vanuit een traumatische slijmvlies sinus	
Hoofdstuk V	
<i>Slotbeschouwing</i>	40
Mogelijkheden voor nader onderzoek	
Het verband tussen bestaande experimentele gegevens en de menselijke pathologie	
Samenvatting	46
Summary	48
Foto's	51
Literatuurlijst	68

INLEIDING

Vanaf het begin van deze eeuw hebben vele onderzoekers getracht bij dieren maagcarcinomen op te wekken. Daarbij hoopte men aan de hand van een experimenteel model verbanden te kunnen leggen met etiologische, pathogenetische en fysiologische mechanismen die een rol spelen bij het menselijk maagcarcinoom. Aanvankelijk liepen de pogingen op een mislukking uit: in het gunstigste geval konden enkele nauwelijks in de menselijke pathologie voorkomende tumoren in de maag van de gebruikte knaagdieren worden aangetroffen, doch meestal werd geen enkel resultaat geboekt.

Tijdens en vlak na de tweede wereldoorlog kwam hierin verandering. In deze periode lukte het STEWART en medewerkers voor het eerst met behulp van carcinogenen bij muizen en ratten adenocarcinomen te induceren. Het percentage tumoren was echter laag en door het meestal achterwege blijven van metastasering of infiltratieve groei in naburige organen bleek het onderscheid tussen benigne en maligne tumoren moeilijk. Hoewel sindsdien werd gepoogd deze resultaten te verbeteren, is tot op heden het beeld nauwelijks gewijzigd.

In dit proefschrift wordt - na een bespreking van de literatuur - verslag gedaan van een experimenteel onderzoek waarin bij de rat maagcarcinoom werd opgewekt. Daarbij werd een verhoudingsgewijs redelijk aantal tumoren verkregen en kon bovendien enig inzicht in de genese van de gevonden lesies worden opgedaan. De resultaten van dit onderzoek toonden naast overeenkomsten ook duidelijke verschillen met de gegevens uit de literatuur.

Hoofdstuk I

ALGEMENE ORIËNTATIE OVER MAAGCARCINOOM BIJ DIEREN

Als inleiding tot de literatuur over het experimentele maagcarcinoom wordt hieronder eerst de anatomie van de maag van de door de verschillende onderzoekers gebruikte proefdieren besproken. De reden hiervoor is, dat bij enkele van deze dieren de maag is bekleed met twee essentieel verschillende soorten epitheel zodat men daardoor reeds bij een eerste verkenning van de literatuur zal worden geconfronteerd met het feit, dat in deze dieren twee soorten maligne epitheliale tumoren (adenocarcinomen en plaveiselcelcarcinomen) kunnen worden opgewekt.

Muis, rat en hamster

De maag van de muis en die van de rat tonen onderling weinig verschil en zijn opgebouwd uit twee gedeelten:

- a. het proximale, de voormaag en
- b. het distale, de kliermaag.

De voormaag is bekleed met verhoornend plaveiselcelepitheel, dat zich vanuit de oesophagus uitstrekt tot aan een duidelijk zichtbare en iets verheven scheidingslijn halverwege de maag.

De mucosa van de kliermaag is opgebouwd uit klierbuisjes, waarvan een smal zoompje nabij de scheidingslijn slijm produceert en cardia wordt genoemd. Daarop volgt verder naar distaal een vrij brede zone fundusepitheel met zoutzuur- en pepsinogeencellen. Ongeveer vanaf halverwege de afstand tussen scheidingslijn en pylorus bestaat de mucosa uit - slijmproducerende - pyloruskliertjes. Deze laatste bevinden zich in een maagdeel, dat antrum wordt genoemd.

De met een dikke slijmvlieslaag beklede fundus is rozerood gekleurd, het dunnere antrum iets lichter, terwijl de met plaveiselcelepitheel bedekte voormaag bijna wit is. De bouw van de maag van

de hamster verschilt zeer weinig van die van de rat en de muis; het meest opvallende verschil is wel de sterke insnoering tussen voor- en kliermaag.

Cavia

De anatomie van de maag van de cavia wijkt in zoverre van die van de hierboven genoemde dieren af, dat de voormaat ontbreekt. Bij de uitmonding van de oesophagus begint meteen een met klierbuisjes bezet slijmvlies, dat zich over het gehele oppervlak van de maagwand uitstrekt en van proximaal naar distaal een opbouw vertoont, die analoog is aan die van de mucosa van de kliermaag van de rat en de muis. De mucosa van de menselijke maag toont dezelfde structuur als die van de cavia.

Het voorkomen van spontane maagtumoren bij dieren

Zeer zelden worden bij dieren gezwollen van de maag aangetroffen. Dit geldt in het bijzonder voor tumoren van de kliermaag. Over de literatuur ten aanzien hiervan geven WELLS e.a. (1938), KLEIN en PALMER (1940), STEWART (1953, 1961) en ROWLATT (1967) overzichten. Hieruit worden enige voorbeelden geciteerd, waarbij moet worden aangetekend, dat niet in alle gemelde gevallen de maligniteitscriteria duidelijk waren aangegeven.

Muizen

In meer dan 142.000 van alle door Maud Slye gekweekte muizen, die onbehandeld en meestal op oudere leeftijd aan een natuurlijke doodsoorzaak waren gestorven, vonden WELLS e.a. (1938) 15 dieren met een gezwel van de maag. Negen hiervan hadden een plaveiselceltumor, drie een adenocarcinoom, twee een adenoom en één een sarcoom. Dit verslag had betrekking op alle obducties die over een observatieperiode van 20 jaar op muizen uit dit materiaal waren verricht.

MILLER en PYBUS (1956) vonden naast enkele benigne gezwollen van de kliermaag in een groep van circa 7000 muizen één lokaal invasief groeiend adenocarcinoom; UPTON e.a. (1960) beschreven één adenocarcinoom en één adenoom in 662 controledieren van een

stralingsexperiment. GUÉRIN (1954) vond in 9000 muizen één kliermaagtumor met het histologische aspect van een infiltrerend anaplastisch carcinoom.

Ratten

BULLOCK en CURTIS (1930) zagen in een serie van meer dan 33.000 laboratoriumratten één adenocarcinoom en 9 sarcomen van de kliermaag. GUÉRIN (1954) vond in 16.500 dieren één divertikel en één „adenomateuze tumor”. CRAIN (1958) en LAQUEUR (1965) beschreven op respectievelijk 786 en 110 ratten twee adenocarcinomen en één adenoom.

Hamsters

FORTNER (1957) vermeldt in een artikel over spontaan voorkomende tumoren bij 223 hamsters, dat in 14 gevallen een adenocarcinoom „van de maag of de darm” werd aangetroffen. Sommige van deze dieren waren echter onderworpen geweest aan ingrepen, waarvan de auteur evenwel aannam dat deze niet in verband stonden met het optreden der genoemde gezwellen.

Praomys natalensis (Mastomys natalensis)

In 1957 beschreef OETTLÉ, dat in een laboratoriumkolonie van dit in Afrika in het wild voorkomende knaagdier in een hoog percentage metastaserende maagcarcinomen voorkwamen. Op grond van deze voor het experimentele maagcarcinoomonderzoek stimulerende mededeling zijn sindsdien in diverse landen kolonies van deze „multi-mammate mouse” gesticht, waarbij het aanvankelijk moeilijk bleek de bevindingen van OETTLÉ te bevestigen. SNELL (1965) echter vond bij een aanzienlijk deel van de *Praomys* uit de kolonie van het „National Cancer Institute” epitheliale maagtumoren, die in ongeveer een kwart van de gevallen metastaseerden. Later is evenwel gebleken dat dit carcinoiden waren, opgebouwd uit één van de vormen van enterochromaffine cellen (SNELL en STEWART (1969).

Andere diersoorten

STEWART (1953, 1961) vermeldt dat ook in caviae, honden, ko-

nijnen, schapen, paarden en koeien kliermaagtumoren zeer zelden zouden voorkomen. COTCHIN (1967) daarentegen zegt in een serie van ongeveer 1000 tumoren bij honden vijf gevallen van een dergelijk gezwel te hebben gezien.

In de literatuur beschreven methoden om maagcarcinomen op te wekken

In de loop der tijden is getracht om met de volgende methoden maagcarcinomen op te wekken:

1. Parasieten.
2. Aan het dieet toegevoegde prikkelende stoffen.
3. Deficiënte diëten.
4. Straling.
5. Carcinogene stoffen.

Hieronder volgt een bespreking van elke categorie; de eerste drie, die voornamelijk van historisch belang zijn, aan de hand van overzichten van KLEIN en PALMER (1940), STEWART (1953) en ROWLATT (1967).

1. Parasieten

FIBIGER beschreef in 1913 dat bij ratten uit een suikerraffinaderij voormaagcarcinoom voorkwam. Dit zou zijn veroorzaakt door het eten van kakkerlakken, welke met de worm *Gonglyoma neoplasticum* (*Spiroptera neoplasticum*) besmet waren. Deze bevindingen konden door hem in laboratoriumratten worden gedupliceerd. Op grond hiervan kreeg de auteur, als eerste kankeronderzoeker, in 1926 de Nobelprijs.

Helaas konden zijn resultaten niet door anderen worden bevestigd en later werd aangenomen, dat de door hem beschreven lesies berustten op hyperplastische slijmvliesveranderingen veroorzaakt door een vitamine A deficiënt dieet en chronische irritatie.

2. Aan het dieet toegevoegde prikkelende stoffen

Een tijdlang zijn verhitte vetten verdacht geweest als mogelijke etiologische factoren voor het menselijk maagcarcinoom. Experimenten die hiermee werden gedaan hebben evenwel nooit carcinomen opgeleverd (ARFFMANN 1960).

3. *Voedingsdeficiënties*

Vele experimenten op dit gebied zijn wat carcinomen betreft eveneens zonder resultaat gebleven (KLEIN en PALMER 1940).

4. *Straling*

In muizen en ratten die in toto aan de inwerking van Röntgen, gamma- of neutronenstraling werden blootgesteld konden naast tumoren elders in het lichaam ook steeds enkele kliermaagcarcinomen worden aangetroffen (NOWELL e.a. 1958; UPTON e.a. 1960; CASTANERA e.a. 1968).

Door Röntgenstralen meer specifiek op de maag te gaan richten, bleek HIROSE (1969) in staat in dit orgaan een hoger percentage adenocarcinomen op te wekken dan tot op dat moment mogelijk was geweest. In een groep van 45 muizen vond hij aldus 7 met een dergelijke tumor, welke in twee gevallen was gemetastaseerd. Een nadeel van de behandeling was echter de hoge mortaliteit die er het gevolg van was.

5. *Carcinogene stoffen*

In de afgelopen 30 jaar zijn op het gebied van de chemische carcinogenese in de maag vele experimenten uitgevoerd die, hoewel betrekkelijk weinig, niettemin relevante informatie hebben opgeleverd, vooral ten aanzien van het kliermaagcarcinoom. Zij zullen in hoofdstuk II nader worden besproken.

CHEMISCHE CARCINOGENESE IN DE PROEFDIERMAAG

Als inleiding tot de literatuur over het chemisch opgewekte maagcarcinoom wordt hieronder eerst - aan de hand van een indeling van EMMELOT (1965) - een schematisch overzicht gegeven over de daarin voorkomende carcinogenen. Daarna volgen een bespreking van de experimenten waarbij kliermaagcarcinomen werden opgewekt (ingedeeld naar de gebruikte carcinogenen), een samenvatting van de literatuur over het voormaagcarcinoom en als laatste enkele conclusies die uit dit feitenmaterial kunnen worden getrokken.

Carcinogenen

1. *Polycyclische aromatische koolwaterstoffen*

Voorbeelden: 1, 2, 5, 6-Dibenzanthraceen (= Dibenz[a,h]anthraceen), 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthraceen (= 7,12-Dimethylbenz[a]anthraceen), 20-Methylcholanthreen (= 3-Methylcholanthreen) en 3,4-Benzpyreen (= Benz[a]pyreen).

- Werking: a. via covalente bindingen aan DNA, RNA en cytoplasma eiwitten met waarschijnlijk vorming van epoxydes, die alkylierend zouden zijn.
- b. Door middel van niet covalente interactie met macromoleculen, waardoor b.v. partiële afscherming van DNA zou kunnen optreden met mogelijke fouten bij de duplicatie.

2. *Alkylerende agentia*

De werking van deze stoffen berust op het alkyleren van nucleine-zuren en eiwitten, met als mogelijke gevolgen verandering in of inactivering van genetische informatie. Zij kunnen in twee groepen worden onderverdeeld:

- a. *direct werkende carcinogenen*. Hiertoe behoren onder andere de aflatoxines, stofwisselingsproducten van de schimmel *Aspergillus flavus*, waarvan tot nu toe een viertal is geïsoleerd (WOGAN 1969), die alle voornamelijk carcinogeen zijn voor de lever.
- b. *procarcinogenen*, stoffen die eerst na enzymatische omzetting in vivo een reactief alkylerend agens opleveren. Tot deze groep behoren de nitroso verbindingen, die, al naar hun chemische structuur onder andere op verschillende plaatsen in de tractus digestivus tumoren kunnen induceren (DRUCKREY e.a. 1967).

3. *Aromatische aminen*

Voorbeelden: N, N'-2, 7-Fluorenyleenbisaceetamide, N- Hydroxy-2-acetylaminofluoreen.

De juiste werking hiervan is nog niet precies bekend; wel kan worden gezegd, dat N-hydroxylering in vivo leidt tot activering van het carcinogeen.

4. *4-Nitrochinoline-N-oxyde*

Deze verbinding wordt in vivo gereduceerd tot 4-Hydroxyaminochinoline-N-oxyde, welke stof carcinogeen en mutageen is en reageert met DNA.

Experimenten waarbij kliermaagcarcinomen werden opgewekt

I. *20-Methylcholanthreen (MCA)*

A. De experimenten van STEWART e.a.

In een reeks van publikaties (1941-'42; 1949-'53; 1952; 1958) hebben STEWART en medewerkers verslag gedaan van hun pogingen om met behulp van met name 20-Methylcholanthreen (MCA) adeno-carcinomen in de proefdiermaag op te wekken. Zij waren in 1941-'42 de eersten die deze tumoren op een redelijke schaal wisten te induceren en goed gedocumenteerd hebben beschreven.

Voordat hieronder een overzicht van elk onderzoek zal worden gegeven, volgt eerst een beschrijving van de daarin steeds weerkerende tumornomenclatuur.

Met de term *carcinoom* werden epitheliale tumoren aangeduid, die alle lagen van de maagwand infiltreerden en een tumorknobbeltje

aan de zijde van de serosa hadden gevormd. Deze criteria werden eveneens op *sarcomen* - gezwellen bestaande uit neoplastisch veranderde mesenchymale weefselcomponenten - en *carcinosarcomen* - mengvormen van beide eerstgenoemde tumoren - toegepast. Bij de carcinomen werden twee vormen onderscheiden:

- a. de voornamelijk uit buisjesachtige structuren opgebouwde *adenocarcinomen* en
- b. *adenoacanthomen*, gezwellen bestaande uit onderling vermengd voorkomende veldjes of strengetjes atypisch plaveiselcel epitheel met onregelmatige klierbuisjes.

Alle neoplasma's die in hun groei de serosa nog niet hadden bereikt en niet waren gemetastaseerd, werden met *prekanker* aangeduid.

Voorbeelden hiervan waren *adenomen* (evenals adenocarcinomen uit buisjesstructuren opgebouwd) en *adenomateuze divertikels*. Laatstgenoemde lesies konden uitsluitend bij de rat worden opgewekt; alle andere hierboven genoemde afwijkingen werden zowel bij de rat als bij de muis aangetroffen.

Het adenomateuze divertikel werd beschreven als een grote, chronisch ontstoken uitbocht van de maagwand opgevuld met onregelmatig gevormde, op doorsnede honingraatachtige tumorknobbels. Deze laatste waren opgebouwd uit veelal cysteus gedegenerende, cytologisch niet maligne klierbuisjes, die in een vrij profuus stroma waren ingebed en met name aan de zijde van de serosa nergens tekenen van infiltratie van de daar nog spaarzaam aanwezige delen van de muscularis propria toonden. In de „divertikels” werd in een aantal gevallen metaplastische botvorming en/of plaveiselcelmetaplasie aangetroffen.

1. De experimenten uit de jaren 1941-'42 met muizen

Na aanvankelijk vruchteloos te hebben getracht onder meer met carcinogeenemulsies per os het gestelde doel te bereiken - er werden op deze wijze uitsluitend enkele plaveiselceltumoren van de voormaag of adenocarcinomen van de dunne darm gevonden - besloten de auteurs hun techniek te modificeren. Het carcinogeen werd nu op twee verschillende manieren in de wand van de kliermaag aangebracht:

- a. door middel van injectie ter plaatse, en
- b. door adsorptie aan katoenen draadjes die in de submucosa werden geïmplant.

Eenentwintig kleine experimenten werden in deze tijd ondernomen, waarbij telkens een combinatie van één van een drietal carcinogenen met één van een zestal muizenstammen en met één van bovengenoemde toedieningswegen werd toegepast. De beginleeftijd van de muizen was 3-5 maanden; ze werden afgemaakt zodra een tumor kon worden gepalpeerd.

Adenocarcinomen werden uitsluitend aangetroffen in enkele groepen dieren waarbij MCA per injectie was toegediend: in een groep van 47 mannelijke C₃H muizen vond men er 7 met deze tumor, in 11 mannetjes van de stam C57BR één en in vier mannetjes van de stam I (ie) 3. Geen ervan was gemetastaseerd, doch één kon met behoud van de oorspronkelijke structuur over 12 generaties worden getransplanteerd.

Naast de adenocarcinomen vond men verspreid over alle deel-experimenten (totaal 293 muizen), doch uitsluitend in die groepen dieren die MCA of dibenzanthraceen hadden gehad: 44 adenomen, 8 adenoacanthomen, 18 carcinosarcomen, twee adenoacanthomen gemengd met een sarcoom en 30 sarcomen. Opmerkelijk was, dat de draadmethode geen epitheliale tumoren had opgeleverd.

2. Het muizenexperiment uit 1949-1953

Op grond van de resultaten, die in het hierboven beschreven onderzoek werden bereikt, werd besloten de MCA-injectietechniek in een nieuw experiment nader te evalueren. Het carcinogeen werd nu in de vorm van een waterige aerosol OT-Methocel suspensie aan muizen van een zestal stammen toegediend. Elk dier kreeg hierbij 0,01 ml van de suspensie met daarin 0,3 mg MCA in de wand van de ventrale zijde van de kliermaag geïnjecteerd.

De resultaten worden in tabel I weergegeven. Daarbij kan nog worden vermeld, dat de dieren werden afgemaakt zodra een tumor kon worden gepalpeerd en dat aldus de meeste carcinomen tussen 3 en 22 maanden na het begin van het experiment werden aangetroffen. Slechts één van de carcinomen bleek te zijn gemetastaseerd.

TABEL 1

Tumorontwikkeling in de kliermaag bij een aantal muizenstammen behandeld met MCA-injecties (Stewart e.a. 1953).

Stam	Aantal	Prekanker	Adenoca.	Adeno- acanthoom	Carcino- sarcoom	Gemengd adeno- acanthoom met sarcoom	Sarcoom
BALB/c	25M	12	2	0	3	1	3
	34V	18	1	1	6	2	5
C57BL	55M	37	1	0	3	1	0
	56V	45	1	1	2	0	1
C ₃ H	46M	18	4	1	5	1	4
	45V	18	4	0	8	0	5
C ₃ Hb	42M	18	2	1	4	0	7
	31V	10	3	1	4	0	6
DBA	29M	1	0	0	0	0	0
	39V	4	0	0	1	0	2
A	36M	17	3	0	6	0	5
	34V	23	2	2	4	0	1

3. *Het muizenexperiment uit 1958*

Om de genese van het experimentele maagcarcinoom bij de muis nader te bestuderen werd een onderzoek opgezet, waarbij van een groep van 109 muizen van de C57BI stam, die op dezelfde wijze als in 1949-'53 met MCA waren behandeld, op regelmatige tijden enkele dieren werden afgemaakt.

De belangrijkste bevindingen waren:

- dat adenocarcinomen in een aanmerkelijk hoger percentage voorkwamen dan in 1949-'53.
- dat deze tumoren multicentrisch waren ontstaan.
- dat de ontwikkeling van carcinomen nooit vooraf werd gegaan door maagzweren, intestinale metaplasie of hyperplastische of atrofische gastritis.
- dat reeds na 15 dagen geen MCA kristallen meer in de submucosa waren aan te tonen.

Een verklaring voor de hogere opbrengst aan carcinomen werd gezocht in het verschil in overlevingsduur van de proefdieren tussen beide genoemde experimenten. Hierdoor zouden eenmaal ontstane adenocarcinomen in het eerdere, langer durende experiment, bij gebrek aan beïnvloeding door het inmiddels te lang verdwenen carcino-geen, in regressie kunnen zijn gegaan.

4. *Het experiment met ratten uit 1952* (HARE, STEWART e.a.)

Dit onderzoek werd begonnen om de vraag te beantwoorden of met de MCA injectietechniek wellicht een hoog percentage adenocarcinomen in de rat zou kunnen worden geïnduceerd.

Driehonderd ratten van een drietal stammen kregen hiertoe op twee plaatsen in de wand van de kliermaag, in het fundus- en in het antrumgedeelte, een injectie met 0,6 mg MCA in aerosol-Methocel. De gemelde resultaten hadden betrekking op een groep van 265 dieren die de operatie overleefden en werden niet uitgesplitst over de verschillende stammen. De dieren werden zo lang mogelijk in leven gehouden, doch werden afgemaakt zodra ze in een slechte toestand kwamen te verkeren. De langste overlevingstijd was 35 maanden; na 9 maanden konden de eerste tumoren worden gepalpeerd.

In 26 ratten vond men aldus 28 maligne gezwellen:

vier adenocarcinomen,
vier adenoacanthomen,
drie carcinosarcomen,
zestien sarcomen en
één ongeclassificeerde tumor.

De meest voorkomende afwijking was echter het adenomateuze divertikel, waarvan er in 220 dieren 273 werden gezien.

Zowel de benigne als de maligne epitheliale gezwellen werden vaker in het antrum dan in de fundus aangetroffen. Dit gold het sterkst voor het adenomateuze divertikel, waarbij de verhouding antrum-fundus ongeveer 3:1 was.

Van de adenocarcinomen en adenoacanthomen waren respectievelijk twee en één gemetastaseerd; transplantatiepogingen van carcinomen en divertikels mislukten in alle gevallen.

De auteurs kwamen tot de conclusie, dat het experiment geen goed model voor het maagcarcinoom had opgeleverd. Een verkla-

ring hiervoor werd gezocht in het niet tot maligne degeneratie komen van de - precancereuze - divertikels. Dit nu zou kunnen zijn veroorzaakt door uitstorting van carcinogeen in het lumen van de maag, in een vroeg stadium van ingroei van klierbuisjes in de injectieplaats. Hierdoor zou de oncogene prikkel te snel zijn weggevallen.

B. Andere auteurs

Nadat HOWES en DE OLIVEIRA (1948) en GRANT en IVY (1955) met weinig succes hadden getracht om met behulp van met MCA geïmpregneerde draadjes bij ratten maagcarcinomen op te wekken, verkregen SKORYNA en RITCHIE (1960) met een enigszins gewijzigde techniek betere resultaten:

Twee katoenen draadjes, die tevoren waren gedrenkt in gesmolten MCA, werden hierbij in de submosa van de kliermaag van een groep ratten aangebracht en ter plaatse vastgehecht. Deze procedure werd met tussenpozen van drie maanden drie keer herhaald.

Van de 192 ratten die - uit een totale groep van 215 - bij het verschijnen van de eerste tumoren nog in leven waren, hadden na 18 maanden 25 een adenocarcinoom, 15 een adenoacanthoom en 39 een sarcoom. Daarnaast werden in tweederde van alle dieren „divertikels” aangetroffen. Geen van de carcinomen was gemetastaseerd.

PLANTEYDT (1961) bleek in staat om in ongeveer de helft van een kleine groep C57BL muizen, die met MCA injecties of draadjes gedrenkt in ditzelfde carcinogeen waren behandeld, maagcarcinomen te induceren. Hiervan was geen enkele gemetastaseerd.

Ia. *MCA gecombineerd met maagzuursecretie-remmende middelen of ingrepen*

De bevinding uit de menselijke pathologie, dat maagcarcinomen veelal samengaan met lage maagzuurwaarden, vormde voor enkele onderzoekers aanleiding om ook in het experiment de secernerende functie van het maagslijmvlies te gaan beïnvloeden.

KOWALEWSKI en KASPER (1967) meenden door het regelmatig inspuiten van propantheline bromide (een maagzuursecretie-remmend middel) de carcinogenese door MCA bij ratten te kunnen bevorderen. In muizen en hamsters echter bleek het effect juist tegengesteld te zijn.

ACKERMAN (1967) streefde eenzelfde doel na als Kowalewski en Kasper en excideerde hiertoe in een groep ratten, waarbij een MCA pellet in het antrum was geïmplanteerd, de maagfundus. Het verkregen aantal carcinomen bleek evenwel te klein te zijn om enige invloed van deze ingreep aan te tonen.

ARKHIPOV (1967) bedacht een ingenieuze constructie om bij de rat een carcinogeenoplossing direct in contact te brengen met het slijmvlies van de kliermaag. Hij bracht hiertoe in de maagwand een klein peervormig containertje aan, dat met de punt het slijmvlies aan de lumenzijde doorboorde. Uit deze punt stak een lontje, dat in de richting van de pylorus over de mucosa kwam te liggen. In een groep van 32 ratten die waren behandeld met een containertje gevuld met een MCA-oplossing, vond hij aldus na 14-15 maanden vier adenocarcinomen. Deze bevatten alle grote cysteuze holten en waren niet gemetastaseerd. Bij 21 andere dieren, waarbij de container was gevuld met een mengsel van MCA en efedrine, werden in 6 gevallen adenocarcinomen aangetroffen; hiervan zouden vier over het peritoneum zijn uitgezaaid. Van bedoelde metastasen werden evenwel geen microfoto's gepubliceerd. De auteur had gesteld, dat efedrine een plaatselijke remming van de zuursecretie zou geven.

MORGENSTERN (1968) verrichtte in enkele groepen ratten, die alle met twee MCA draadjes volgens de methode van Skoryna en Ritchie waren behandeld (blz. 13), een bilaterale vagotomie, al dan niet gecombineerd met een gastroenterostomie. Van beide ingrepen kon hij een bevorderend effect op de tumorontwikkeling aantonen. Dit gold ook voor adenocarcinomen, die in groepen met een combinatie behandeling in 21-25 % van de dieren werden aangetroffen. In de publikatie werd de gebruikte tumornomenclatuur niet omschreven; evenmin werd er iets over metastasering vermeld.

II. 9, 10-Dimethyl-1,2-benzanthraceen (DMBA)

GRANT (1966) gebruikte in een aantal experimenten op ratten als carcinogeen het DMBA, een stof, waarmee SOLOVEV e.a. eerder (1963) weinig succes hadden geboekt. Deze stof werd door haar in kristallijne vorm in de wand van de kliermaag geïmplanteerd, echter niet voordat het submucosale weefsel ter plaatse met een sonde nog eens extra ruw was gemaakt. Dit laatste werd gedaan om een Deel-

man-effect (verhoging van de tumoropbrengst door mechanische beschadiging) te verkrijgen. In enkele kleine series van in totaal 22 ratten verkreeg ze op deze wijze in 13 dieren „kanker”gezwellen. Deze waren in de meeste gevallen opgebouwd uit vrij ongedifferentieerde, epitheliale of mesenchymale cellen, doch in één dier was er sprake van een duidelijk mucineus adenocarcinoom.

III. *Aflatoxine*

BUTLER en BARNES vermeldden in 1963 in een verslag van een toxiciteitsonderzoek van met aflatoxine besmet pindameel op ratten naast diverse levertumoren ook een tweetal adenocarcinomen van de maag te hebben aangetroffen.

In 1966 voegden ze hier in een kort artikel aan toe, dat na verder experimenteren met hetzelfde meel nog twee van dergelijke tumoren waren gezien. Het percentage van voorkomen was echter in beide gevallen laag.

IV. *Nitroso verbindingen*

In een korte mededeling beschreef SCHOENTAL (1963) dat in een niet nader genoemd aantal ratten, die tweemaal een kleine dosis N-Nitroso-N-methylurethaan via een gastrostomie kregen toegediend, na een latentietijd van twee jaar in twee dieren een adenocarcinoom van de maag werd gevonden. Helaas echter bleek het carcinogeen sterker op de voormaag dan op de kliermaag werkzaam te zijn.

SUGIMURA en FUJIMURA (1967) gaven N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine continu in het drinkwater aan ratten. In een voorlopig verslag van hun bevindingen vermeldden ze in een groot deel van de reeds geobduceerde dieren adenocarcinomen van de kliermaag te hebben gezien. Deze waren niet gemetastaseerd. Met dezelfde verbinding konden SCHOENTAL en BENSTED (1969), na toediening per maagslang, in 8 ratten één adenocarcinoom opwekken. Drie andere dieren uit deze groep kregen evenwel een voormaagcarcinoom.

DRUCKREY en medewerkers (1968) testten na een oriënterend onderzoek (1967) de carcinogeniteit van een tweetal nitroso verbindingen voor de maag van de cavia. Dit waren a. methylnitroso-ureum en b. methylnitroso-urethaan, stoffen die beide continu aan het

drinkwater werden toegevoegd. Met beide stoffen konden na een latentietijd van gemiddeld 700-800 dagen maagcarcinomen worden opgewekt; met methylnitroso-urethaan in een veel hoger percentage (33 %) dan met methylnitroso-ureum (11 %). Hoewel al deze maagcarcinomen nader waren benoemd (zoals b.v. met de termen adenocarcinoom en ulcuscarcinoom) werd over de histologie ervan niets vermeld.

Beide carcinogenen bleken naast de genoemde affiniteit voor de maag een even grote werking op het pancreas uit te oefenen. Daarin zag men carcinomen in vrijwel identieke percentages optreden.

V. *Aromatische aminen*

In een monografie over de carcinogeniciteit van N, N'-2,7-Fluorenyleenbisacetamide (2,7-FAA) beschreven STEWART e.a. (1961) de gezwellen die door deze verbinding in de magen van ratten konden worden opgewekt.

In een groep van 72 ratten, die het carcinogeen continu aan het voer toegediend hadden gekregen, werd na 8 tot 9 maanden in twee gevallen een adenocarcinoom precies op de pylorus gevonden en in één ander geval een dergelijke tumor in de maagfundus. Van de pyloruscarcinomen kon niet worden uitgemaakt uit welke cellen, van het antrum- of van het duodenumslimvlies, deze waren ontstaan. Naast de genoemde maagtumoren werden op vele andere plaatsen in het lichaam gezwellen aangetroffen, veelal in een hoger percentage van voorkomen dan in de maag.

In 1962 testten MORRIS e.a. 2,7-FAA opnieuw in de rat, nu via de intraperitoneale toedieningsweg. Hiermee werd een vrijwel even grote tumoropbrengst in de maag verkregen als in het hierboven vermelde onderzoek.

NAGAYO (1965) bracht in een groep ratten, die 2,7-FAA oraal kregen toegediend, mechanische beschadigingen van het maagslimvlies aan. De tumorpromotie die hij hiervan verwachtte bleef evenwel uit.

MILLER e.a. (1964) vermeldten in een experiment, waarbij muizen N-Hydroxy-2-acetylaminofluoreen in het voer hadden gehad, in één dier een kliermaagcarcinoom te hebben aangetroffen. Ook voor deze aromatische amine gold evenwel, dat het middel aanzienlijk sterker

carcinogeen was voor andere weefsels en organen dan voor de kliermaag.

VI. 4-Nitrochinoline-N-oxyde en afgeleide verbindingen

MORI en medewerkers testten de carcinogeniteit van enkele nitrochinoline verbindingen voor de maag van de muis en de rat. Het carcinogeen werd hierbij steeds een aantal malen per maagslang toegediend. Zij kwamen tot de volgende conclusies:

- a. dat 4-Nitrochinoline-N-oxyde zwak carcinogeen is voor zowel de voormaag als de kliermaag van de muis (MORI 1967).
- b. dat 4-Hydroxyaminochinoline-N-oxyde in ditzelfde proefdier niet op de voormaag werkt, doch uitsluitend op de kliermaag (MORI en OHTA 1967) en
- c. dat de hydrochloride verbinding van b. in de kliermaag van de muis en de rat eveneens in een vrij laag percentage carcinomen kan induceren (MORI e.a. 1969a en 1969b).

Een bezwaar van alle genoemde verbindingen was echter hun sterke toxiciteit welke tot gevolg had, dat de groepen proefdieren reeds aanzienlijk waren uitgedund voordat tumoren konden worden aangetroffen.

MAJIMA e.a. (1966) meldden in een experiment waarbij werd getracht om met behulp van 4-Nitrochinoline-N-oxyde ulcuscarcinomen te induceren, in één rat (uit 14) een mucineus adenocarcinoom te hebben aangetroffen.

VII. Combinaties van carcinogenen

BABA e.a. (1962) konden in een groep van 16 ratten die enkele malen 4-Nitrochinoline-N-oxyde via een gastrostomie kregen toegediend en daarna gedurende lange tijd met MCA op de rug huid werden ~~gepenseeld~~^{gepenseeld} in één dier een adenocarcinoom van de kliermaag en in drie andere een voormaagtumor opwekken.

STEWART e.a. (1965) onderzochten het gecombineerde effect van a. MCA injecties in fundus en antrum en b. 2,7-FAA in het voer op de maag van de rat. De opbrengst aan carcinomen van de gecombineerde behandeling bleek hierbij groter te zijn dan die van de som der afzonderlijke behandelingen. De méér verkregen carcinomen waren echter meestal gemengd met sarcomateuze componenten.

ODASHIMA (1969) testte een viertal combinaties van telkens twee carcinogenen op hun oncogeen vermogen voor de kliermaag van de rat. Daarbij maakte hij gebruik van:

- a. DMBA of 4-Nitrochinoline-N-oxyde, beide opgelost in waspels, gecombineerd met òf
- b. 2,7-FAA gemengd door het voer, òf
- c. N-Nitrosodiethylamine in het drinkwater.

Adenocarcinomen werden hierbij uitsluitend aangetroffen in enkele dieren die een combinatie van 4-Nitrochinoline-N-oxyde met b. of c. hadden gehad. Daarbij dient te worden vermeld dat het percentage van voorkomen erg laag was en dat bovendien voor de tumordiagnostiek voornamelijk van cytologische maligniteitscriteria gebruik werd gemaakt. Dezelfde auteur had eerder (1968) het effect van DMBA, dat in een chirurgisch aangebracht divertikel van de maagwand was geplaatst, nagegaan. De ratten, die deze behandeling ondergingen, kregen bovendien 2,7-FAA aan het voer toegediend. Op deze wijze slaagde hij er eveneens in enkele adenocarcinomen op te wekken. Ook in dit geval echter werden de tumorcriteria slecht aangegeven.

Voormaagcarcinomen

Aan de hand van o.a. overzichten van STEWART (1953; 1967) kunnen de volgende feiten worden gememoreerd:

- a. Toediening van carcinogene polycyclische koolwaterstoffen per os, dat wil zeggen, door het voer gemengd of gesuspenderd in het drinkwater, kan in de magen van muizen, ratten en hamsters uitsluitend aanleiding geven tot gezwelvorming in het proximale, met plaveiselcel epitheel beklede gedeelte.

Andere mogelijke aangrijpingspunten van het carcinogeen zijn in dit geval de dunne darm en het haematopoëtisch apparaat in de muis en de mammae bij de rat.

STEWART kon aldus met MCA en dibenzanthraceen - beide in olie-water-emulsies en toegediend in plaats van drinkwater - in 71 uit een totaal van 425 muizen voormaagcarcinomen opwekken. In 35 gevallen waren deze gemetastaseerd.

- b. Uit alle in het overzicht op blz. 7 en 8 genoemde groepen carcinogenen zijn verbindingen bekend, waarmee op een of andere

wijze bij knaagdieren voormaagtumoren kunnen worden opgewekt. Bijzonder werkzaam zijn in dit verband enkele nitroso verbindingen (DRUCKREY e.a. 1967).

- c. Een dieet, dat deficiënt is aan eiwit, vit. B complex of vit. A heeft op de carcinogenese in de voormaag van muizen een bevorderend effect (HITCHCOCK 1954); daarentegen onderdrukt toediening van vit. A in hamsters de carcinogenese door DMBA en benzpyreen (CHU en MALMGREN 1965).
- d. De voormaag van C57BL-muizen blijkt gevoeliger te zijn voor de carcinogene werking van MCA en DMBA dan de huid (BOCK en KING 1959).

De histologie en de histogenese van het experimentele voormaagcarcinoom werden uitvoerig beschreven door STEWART (1953).

Conclusies

In een eerder genoemde literatuurbespreking (blz. 5) kwamen KLEIN en PALMER (1940) tot de conclusie, dat het gewenst was om bij verdere onderzoeken op het gebied van het experimentele maagcarcinoom te komen tot een uniforme definiëring van de gevonden pre-maligne en maligne afwijkingen. Zij stelden, dat een experimenteel opgewekte maagtumor pas als maligne kon worden beschouwd als deze:

1. was gemetastaseerd,
2. invasief en destructief groeide in naburige weefsels of organen,
3. als de in 1. en 2. genoemde eigenschappen ook na het wegvallen van de carcinogene prikkel zouden blijven bestaan.

Cytologische maligniteitscriteria alléén achtten zij voor de diagnostiek onvoldoende.

De resultaten van de in dit hoofdstuk besproken experimenten waarbij kliermaagcarcinomen werden opgewekt, kunnen worden beoordeeld aan de hand van de wijze waarop aan de eisen van KLEIN en PALMER werd voldaan. Dan moet worden geconcludeerd, dat het werk van STEWART en medewerkers in dit verband het meest waardevol is geweest. Zij hebben zich namelijk in hun goed beschreven en fraai geïllustreerde serie experimenten het meest consequent aan deze eisen gehouden. Voor vrijwel alle andere auteurs geldt, dat hun resultaten door een minder goed omschreven en van geval tot geval

soms sterk verschillende tumornomenclatuur, onderling, en met die van Stewart's groep, moeilijk kunnen worden vergeleken en dat daarom de waarde van hun bevindingen minder groot is dan ze had kunnen zijn.

Wat de resultaten zelf betreft, is het het meest opvallend dat:

1. geen enkel experiment een hoog percentage adenocarcinomen zonder bijmenging van andere soorten gezwellen heeft opgeleverd, en
2. dat de gevonden adenocarcinomen, althans tumoren waaraan deze naam werd gegeven, slechts in zeer weinig gevallen waren gemetastaseerd of naburige organen hadden geïnfiltriseerd.

Hoofdstuk III

EIGEN ONDERZOEK

Bij de opzet van het eigen experiment werd uitgegaan van de veronderstelling, dat het wellicht mogelijk zou zijn de vele in het onderzoek van HARE, STEWART e.a. (1952) op ratten gevonden premaligne, adenomateuze divertikels tot adenocarcinomen te laten uitgroeien. Daartoe leek het gewenst dat:

- a. het toe te passen carcinogeen sterker zou werken dan het door HARE e.a. gebruikte MCA en
- b. dat het carcinogeen door een andere wijze van applicatie zijn werking ook langer zou kunnen blijven uitoefenen.

Om deze redenen werd besloten gebruik te maken van:

1. DMBA, waarvan GRANT (1966) had aangetoond, dat het in de maagwand als carcinogeen vrij sterk werkzaam was en
2. de draadtechniek waarmee SKORYNA en RITCHIE (1960) verhoudingsgewijs goede resultaten hadden behaald.

Daarnaast werd nog een poging ondernomen om een tumorpromotie te bewerkstelligen door aan het proefdiervoer een stof toe te voegen, die het maagslijmvlies continu licht zou prikkelen. Hiertoe werd acetosal gebruikt, waarvan bekend is, dat het in de magen van vele proefdieren aanleiding kan geven tot slijmvlieserosies (HURLEY en CRANDALL 1963; ANDERSON 1963, 1965; ROTH en VALDES-DAPENA 1963; FISHLER 1964; BRODIE en CHASE 1967; TAYLOR en CRAWFORD 1968). In een enkel geval werden na langdurige toediening van acetosal zelfs maagulcera gezien (FISHLER 1963).

Samenvattend kan worden gezegd, dat in het eigen experiment de volgende hypothesen werden getoetst:

- a. Het is mogelijk om met behulp van met DMBA geïmpregneerde en in de wand van de kliermaag aangebrachte katoenen draadjes bij de rat een hoog percentage adenocarcinomen te induceren en
- b. het percentage adenocarcinomen kan worden verhoogd door toediening van acetosal aan het voer.

Materialaal en methoden

A. Proefdieren

Het experiment werd uitgevoerd op mannelijke Wistarratten, afkomstig van het Centraal Proefdierenbedrijf T.N.O., die bij het begin van het onderzoek twee tot drie maanden oud waren en een gewicht hadden van 190-270 gram.

De dieren werden gevoerd met Muracon I pellets (Fa. Trouw en Co., A'dam en Putten). Acetosol werd toegediend in de vorm van Muracon pellets, die een half procent aspirine bevatten (Acetosalvoer). Drinkwater kon ad libitum worden gebruikt.

B. Proefopzet

TABEL 2.
Behandelingsschema

Week	Behandelingsdagen	Aantal behandelde dieren per groep					
		I	II	III	IV	V	VI
I	23-4-'68: I, II, IV en VI 24-4-'68: III en V	8	8	5	5	5	5
II	30-4-'68: I en II 1-5-'68: III t/m VI	9	9	6	5	6	6
III	7-5-'68: I en II 8-5-'68: III t/m VI	9	9	6	5	6	5
IV	14-5-'68: I en II 15-5-'68: III t/m VI	9	9	6	6	5	6
V	21-5-'68: I en II 22-5-'68: III t/m VI	8	8	6	6	6	6
VI	28-5-'68: I en II 29-5-'68: III t/m VI	9	9	6	6	6	5
VII	5-6-'68: I en II 4-6-'68: III t/m VI	8	8	6	6	6	6
VIII	11-6-'68: I en II 12-6-'68: III t/m VI	9	9	5	7	5	6
Totaal		69	69	46	46	45	45

De dieren waren verdeeld in de volgende zes groepen:

- I. 69 ratten met twee DMBA draadjes in de wand van de kliermaag.
- II. 69 ratten met twee DMBA draadjes in de kliermaag en daarbij gedurende de hele proefperiode Acetosalvoer.

III. 46 ratten met twee draadjes zonder DMBA en Acetosalvoer als in groep II.

IV. 46 ratten uitsluitend met Acetosalvoer.

V. 45 ratten uitsluitend met twee draadjes zonder DMBA.

VI. 45 onbehandelde ratten als controle.

Daar slechts een beperkt aantal ratten tegelijk konden worden geopereerd, werd een behandelingsschema opgesteld, zoals in tabel 2 is weergegeven. Hierin is tevens de verdeling over de kooien af te lezen: elk hokje met een cijfer er in vertegenwoordigt één kooi. Aan het eind van het experiment werden alle overgebleven dieren volgens dit zelfde schema afgemaakt.

C. DMBA draadjes

12-15 cm lange stukjes wit katoenen naaigaren werden op een zodanige wijze in een bakje met gesmolten DMBA (Koch-Light Labs. Colnbrook, Bucks., England) gedompeld, dat de middelste twee à drie cm ervan met het carcinogeen werden geïmpregneerd. Na deze handeling was het DMBA op het draad zichtbaar als een gele, deels kristallijne substantie.

D. Operatietechniek

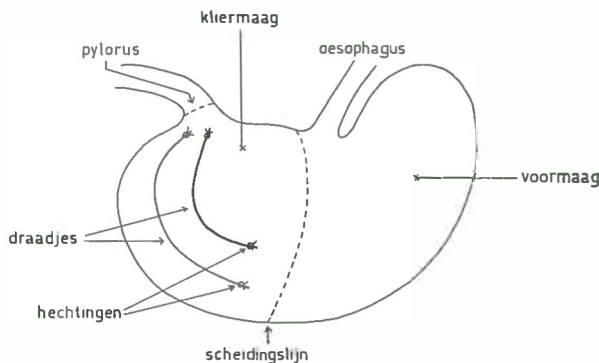


Fig. 1. Plaatsing van de draadjes in de wand van de kliermaag.

Na intraperitoneale Nembutal narcose werd via een mediane hoge laparotomie de maag buiten het lichaam gebracht. Vervolgens werden met een rechte naald twee draadjes in de submucosa van de

kliermaag gestoken, zodanig, dat de gele, met carcinogeen geïmpregneerde delen over een zo groot mogelijke lengte ter plaatse achterbleven. Beide draadjes kwamen in de lengteas van de maag te liggen, één midden in de voorwand en de andere langs de ventrale zijde van de grote curvatuur. De uiteinden ervan werden met een zijden hechtinkje gefixeerd en zo dicht mogelijk bij de maagwand afgeknipt (fig. 1). Nadat de maag weer op de normale plaats was teruggebracht, werd de buik in twee lagen gesloten.

De ratten werden vóór de ingreep niet nuchter gehouden omdat in een kleine testserie was gebleken, dat het innaaien bij een volle maag gemakkelijker verliep en dat tevens een langer stuk draad met meer carcinogeen kon worden ingebracht.

E. Het verdere beloop van het experiment

De totale duur van het onderzoek was 1 jaar en 5 maanden; dieren die voordien in een slechte toestand kwamen te verkeren werden eerder afgemaakt.

Bij de obductie werden de magen zoveel mogelijk langs de kleine curvatuur opengeknipt, op een kurkplaatje uitgespannen en in 8 % formaline gefixeerd. Tevens werd van elke rat het hart, de longen, de lever en de nieren bewaard.

Van elk dier werd minimaal één stukje uit de voorwand van de gefixeerde maag gesneden, zo mogelijk uit een gebied evenwijdig aan de grote curvatuur en steeds over de volle lengte vanaf het distale deel van de voormag tot aan de pylorus. Bij ratten die met draadjes waren behandeld werd er steeds op gelet, dat in deze stukjes delen van de draadjes aanwezig waren. Uit magen die tumoren bevatten werd minimaal één stukje weefsel uit het centrale deel van het gezwel genomen en één uit het overgangsgebied tussen de normale maagwand en de tumor.

De 4 μ dikke paraffinecoupes die van al deze stukjes werden gemaakt, werden gekleurd met haematoxyline-eosine; in enkele gevallen werd ter nadere diagnostiek van tumoren een PAS- of reticulinekleuring gedaan.

Resultaten

Ter inleiding tot de bespreking van de resultaten worden eerst de

voor maagtumoren toegepaste maligniteitscriteria weergegeven. Daarna volgt een gedetailleerde beschrijving van alle aangetroffen afwijkingen.

Maligniteitscriteria

Deze werden voor dit onderzoek grotendeels ontleend aan die, welke destijds zijn opgesteld door KLEIN en PALMER (zie hoofdstuk II blz. 19) en later door STEWART (1953) nader werden gepreciseerd. Zij luiden als volgt:

- A. Een tumor moet als maligne worden beschouwd als:
 - 1. metastasen kunnen worden aangetoond of
 - 2. alle lagen van de maagwand door infiltratief groeiend tumorweefsel worden doorbroken of
 - 3. ingroei van neoplastisch weefsel in bloed- of lymfvaten of naburige organen is opgetreden.
- B. Gezwollen, waarin uitsluitend cytologische neoplastische veranderingen aanwezig zijn (zoals een hoog aantal mitosen en een sterke kernpolymorfie) en nieuwvormingen, waarbij eventuele infiltratieve groei zich beperkt tot de nabij gelegen weefsels worden als pre-maligne gekarakteriseerd.
- C. Bij uitsluiting van bovengenoemde eigenschappen wordt een tumor benigne genoemd.

De in de maag aangetroffen pathologische veranderingen

Hoewel er bij de indeling van de - in tabel 3 samengevatte - maagafwijkingen naar werd gestreefd zoveel mogelijk de nomenclatuur van STEWART (1953) te volgen, bleek dit door verschil in onderzoeksresultaten niet geheel mogelijk. Daarom werden ze in de volgende 8 categorieën ondergebracht:

1. Adenocarcinoom

Vijf dieren uit groep II (DMBA + Acetosol) en één rat uit groep I (DMBA) hadden een dergelijke maligne tumor (foto's 16 t/m 29), die in twee gevallen (beide groep II) metastaseerde naar de longen (foto's 24 en 25) en in één geval (groep II) in mesenteriale lymfvaten was doorgroeid (foto 20).

TABEL 3
Het aantal ratten met maagafwijkingen.

Type afwijking	Experimentele groepen					
	I	II	III	IV	V	VI
	DMBA	DMBA + acetosal	draad + acetosal	acetosal	draad	controles
Adenocarcinoom	1	5	—	—	—	—
Anaplastisch carcinoom	2	2	—	—	—	—
Plaveiselcelcarcinoom	2	—	—	—	—	—
Papilloom	1	1	—	—	—	—
Sarcoom	31	18	—	—	—	—
Adenofibroom	15	13	—	—	—	—
Ulcus	54	58	—	—	—	—
Traumatische slijmvlies sinus	5	1	8	—	9	—
Effectief aantal* ratten per groep	62	60	45	41	43	43

* Aantal dieren waarop obductie kon worden verricht.

Macroscopisch bestonden de niet gemetastaseerde gezwellen uit enkele millimeters grote, nauwelijks zichtbare, onregelmatige, vrij harde verdikkingen van de maagwand, terwijl de metastaserende tumoren imponeerden als kastanjegrote eveneens vast aanvoelende vormsels die in de lever waren gepenetreerd. De in de lymfvaten infiltrerende tumor had de grootte van een kers. De kleur van alle zes gezwellen was op doorsnee wit tot rozerood.

Microscopisch gezien bleken de adenocarcinomen te zijn opgebouwd uit onregelmatige - cytologisch veelal atypische - klierbuisachtige formaties omgeven door een wisselende hoeveelheid matig tot sterk collageenhoudend stroma met soms een duidelijk ontstekingsinfiltraat. In de atypische klierbuisjes kon vaak enig necrotisch, leucocyten bevattend materiaal worden gezien (foto's 17 en 27).

2. *Anaplastisch carcinoom*

De diagnose anaplastisch carcinoom werd gesteld als een ongedif-

ferentieerde maligne tumor in de reticulinekleuring bleek te bestaan uit veldjes of strengetjes van polymorfe cellen omgeven door reticulinevezels (foto's 28 en 29).

Dit was het geval bij twee dieren uit groep I en twee uit groep II.

De omvang van deze witte tot veelkleurige nodulaire tumoren varieerde van enkele millimeters tot pruimgroot; geen ervan was gemetastaseerd.

3. *Plaveiselcelcarcinoom*

Dit maligne gezwel, dat uitging van het voormaagepitheel, werd bij twee ratten uit groep I aangetroffen. In beide gevallen was de tumor opgebouwd uit onregelmatige velden van op plaveiselcelepitheel gelijkende - deels ook meer atypische - cellen, waartussen grillig gevormde keratineformaties waren afgezet. Geen van beide tumoren, die pruimgroot waren, was gemetastaseerd.

4. *Papilloom*

Met deze naam werden twee erwtgrote tumortjes (één in groep I en één in groep II) aangeduid, die zich beide aan de rand van een ulcus bevonden en bij microscopisch onderzoek bleken te zijn opgebouwd uit een conglomeraat van met slijmnapcellen beklede vlokken rondom een brede steel (foto 8). In de steel en in het stroma van de vlokken konden vele regelmatige tot atypische buisjesstructuren worden waargenomen, alle omgeven door een licht ontstekingsinfiltraat. Het vlokepitheel was PAS-positief; in één van de gezwellen bevonden zich veldjes kraakbeen en been. Beide tumoren werden als pre-maligne beschouwd wegens het relatief grote aantal mitosen alsmede vanwege het feit, dat in één van beide één spierlaag door tumorbuisjes werd doorbroken (foto 9).

5. *Sarcoom*

De tumoren die het meest frequent bij dit onderzoek werden aangetroffen waren sarcomen. Deze presenteerden zich bij de obductie als grote, witte, knobbelige, harde gezwellen, uitgaande van de maagwand. De grootte ervan varieerde sterk, doch gemiddeld bleef deze niet onder het formaat van een pruim. In enkele gevallen was zelfs

vrijwel de gehele buikholte door het expansief groeiende tumorweefsel opgevuld. Daarbij was het oorspronkelijke maaglumen vaak moeilijk terug te vinden.

De microscopische beelden waren zeer verschillend, doch alle gezwellen bestonden in principe uit onrustige, meestal in door elkaar lopende bundels liggende, gestrekte tot meer driehoekige mesenchymale cellen. Deze waren omgeven door een wisselende hoeveelheid collagene tussenstof waarin in vele gevallen osteoid, been of kraakbeen was afgezet. De cellen toonden dikwijls een vrij sterke kernpolymorfie en een groot aantal mitosen.

In het naar het maaglumen toegekeerde oppervlak van de sarcomen konden soms enkele buisjesstructuren worden aangetroffen.

Van deze maligne tumor werden er 31 (in evenveel dieren) in groep I en 18 (idem) in groep II gezien. Vier gezwellen uit groep I en twee uit groep II waren gemetastaseerd, meestal naar de lever.

6. *Adenofibroom*

Deze ongeveer erwtgrote, op doorsnede sponsachtige, benigne gezwellen werden in 15 ratten uit groep I en in 13 dieren uit groep II gezien. Alle waren in de bodem van een ulcus ontstaan en bleken te zijn opgebouwd uit twee weefselcomponenten, buisjesachtige structuren en bindweefsel, die beide in een onderling sterk wisselende verhouding voorkwamen (foto's 13 t/m 16). Opvallend was met name, dat in veel van deze tumoren de buisjes tot cysteuze holten leken te zijn verwijld. Deze holten bevatten soms enige necrotische débris met daarin ontstekingscellen. In het stroma werden vaak leucocyten gezien; in sommige gevallen voornamelijk eosinofiele.

Eén van de adenofibromen uit groep II werd op grond van cytologische kenmerken van de buisjes als pre-maligne beschouwd (foto's 14 en 15).

Over het voorkomen van beenbalkjes of kraakbeen in de gevonden adenofibromen geeft tabel 4 nadere informatie. Hierin is tevens een overzicht opgenomen over het gelijktijdig in één dier voorkomen van deze lesie met enkele andere afwijkingen.

TABEL 4

Het samengaan van adenofibromen met enkele andere afwijkingen.

Aantal ratten met:	Experimentele groepen	
	I	II
Adenofibroom, waarin beenbalkjes of kraakbeen	8	6
Adenofibroom + adenocarcinoom	1	—
Adenofibroom + anaplastisch carcinoom	1	—
Adenofibroom + sarcoom	4	—
Totaal aantal dieren met een adenofibroom	15	13

7. *Ulcus*

In het overgrote merendeel van de met DMBA draadjes behandelde ratten werd een maagulcus aangetroffen (tabel 3). Deze ulcera bevonden zich steeds in het oorspronkelijke operatiegebied in de voorwand van de kliermaag. Daar op deze plaats altijd adhesies tussen maag en lever waren opgetreden, was laatstgenoemd orgaan meestal ten nauwste bij de pathologische veranderingen betrokken, zoals op vele van de bij dit proefschrift behorende foto's is te zien.

De ulcera konden zich voordoen als enkele centimeters grote, op het eerste gezicht op tumoren gelijkende, divertikelachtige uitbochtelingen van de maagwand, die het erboven gelegen leverweefsel tot een dunne doorschijnende laag hadden „uitgewalst”, doch ook als - van buitenaf onzichtbare - kleine nisjes, die in de lever waren gepenetreerd. Tussen beide genoemde vormen waren vele overgangstypen mogelijk. Daarbij moet bovendien nog worden vermeld, dat het oppervlak van vrijwel alle tumoren aan de zijde van het maaglumen was geulcereerd.

Op grond van microscopische kenmerken werden twee typen onderscheiden:

- a. „rustig” *ulcus* en
- b. „onrustig” *ulcus*.

Onder een „rustig” *ulcus* werd verstaan een lesie, waarbij de normale maagwand ter plaatse was vervangen door een meestal dunnere, meerlagige structuur, opgebouwd uit bind- en granulatiweefsel met aan de zijde van het lumen of een wisselende hoeveelheid necrotisch beslag of een laag van - min of meer atypisch - regenererend slijm-

vlies (foto's 4 en 5). Als regenererend epitheel in een ulcusbodem of -rand evenwel pre-maligne kenmerken toonde, werd de betreffende lesie met „onrustig” aangeduid (foto's 6 en 7). In beide vormen werden soms kleine beenbalkjes gezien, meestal in het regenererende slijmvlies. Vaak bevatten de ulcera enig chronisch ontstekingsinfiltraat. Bij de 54 dieren uit groep I met een maagulcus was er in vier gevallen sprake van een „onrustige” vorm, bij de 58 uit groep II in vijf. Eén rat met een „onrustig” ulcus uit groep I had tevens een sarcoom. Drie dieren met een „onrustig” ulcus uit groep II hadden tevens respectievelijk een adenocarcinoom, een adenofibroom en intestinale metaplasie.

8. *Traumatische slijmveliessinus*

De naam traumatische slijmveliessinus werd gegeven aan - zich rondom de in de submucosa liggende draadjes uitbreidende - gangetjes, die waren bekleed met atypisch fundus- of antrumepitheel en in vele gevallen via een nauwe opening met het maaglumen in verbinding stonden (foto's 2, 3 en 12).

Doordat bij het snijden van de paraffineblokjes de draadjes, die tot op dat moment nog wel aanwezig waren, vaak verloren gingen, zijn deze in de foto's niet te zien. Niettemin konden veelal kleine vezeltjes ervan met behulp van gepolariseerd licht in de coupes worden aangetoond.

Niet altijd bleven de gangetjes in hun uitbreiding tot de submucosa beperkt: in enkele gevallen waren ze tot buiten de muscularis propria (bij één rat tot in de lever) uitgegroeid en hadden dan vaak een cysteuze vorm aangenomen. Daar deze groei evenwel nooit infiltratief was, werden de sinussen als benigne beschouwd.

Uit tabel 3 blijkt, dat traumatische slijmveliessinussen niet alleen in de met DMBA behandelde groepen voorkwamen, doch ook in die ratten, bij wie een draadje zonder carcinogeen was aangebracht. In de DMBA groepen echter toonden de sinussen vaak een sterkere slijmvliesatypie en een minder goede afkapseling van de diepst gelegen buisjes dan in die zonder deze stof.

In één rat uit groep II werd zowel een slijmveliessinus als een anaplastisch carcinoom gezien (foto's 12, 28 en 29) en in twee dieren uit groep I kwam de combinatie slijmveliessinus-„onrustig” ulcus voor.

Hierbij moet worden aangetekend dat de lesies zich steeds op enige afstand van elkaar bevonden.

De bevindingen in de rest van het lichaam

Naast de vermelde maagafwijkingen werden bij een aantal ratten uit 5 van de 6 groepen nog enkele andere gezwellen aangetroffen. Deze zijn in tabel 5 samengevat.

TABEL 5.
Het aantal ratten met een tumor buiten het gebied van de maag

Type afwijking	Experimentele groepen					
	I	II	III	IV	V	VI
	DMBA	DMBA + acetosal	draad + acetosal	acetosal	draad	controles
Buikhuidtumor	3	6	1	—	2	1
Levertumor	3	—	1	—	—	5
Longadenoom	—	1	—	—	—	—
Leukemie	—	—	1	—	—	—
Adenocarcinoom van het rechter atrium	—	—	1	—	—	—
Effectief aantal* ratten per groep	62	60	45	41	43	43

* Aantal dieren waarop obductie kon worden verricht.

De gevonden buikhuidtumoren bevonden zich meestal op de oorspronkelijke hechtingsplaats van de laparotomiewond. Bij microscopisch onderzoek bleken het fibromen, fibrosarcomen, een haemangioom en een vreemdlichaamsgranuloom te zijn. Van de levertumoren werden er twee als cholangioom geïdentificeerd, de overige waren niet met zekerheid nader te definiëren. Voor het adenocarcinoom, dat bij één rat van groep III in het rechter atrium werd aangetroffen, kon geen verklaring worden gevonden. Hoewel hier aan doorgroei van een bronchuscarcinoom werd gedacht, kon dit vermoeden bij het maken van seriecoupes van de betreffende longhilus niet worden bevestigd.

Tenslotte moet nog worden opgemerkt, dat in vele dieren uit de

TABEL 6
Sterftebeloop tijdens de proefperiode

Groep	Behandeling	Totaal aantal ratten	Effectief aantal ratten ^o	Aantal dat stierf* vóór het eind van het exp. ^o	Aantal dat tot het einde in leven bleef (519d) ^o	Gemiddelde overlevingsduur van de voor- tijdig gestorvenen ^o (dagen) en spreiding
I	DMBA draad	69	62	35	27	350 (173-487)
II	DMBA draad + Acetosol	69	60	23	37	417 (314-507)
III	Draad + Acetosol	46	45	4	41	373 (223-507)
IV	Acetosol	46	41	2	39	458 (408-508)
V	Draad	45	43	1	42	509
VI	Controles	45	43	6	37	456 (406-499)

* Of in slechte toestand werd afgemaakt.

^o Dieren, waarop obductie kon worden verricht.

DMBA groepen één tot meerdere vrij grote, cysteus gezwollen lymfklieren langs de onderrand van de maag werden aangetroffen. Deze bevatten een helder sereus vocht.

Het sterftebeloop tijdens de experimentele periode

In tabel 6 zijn enkele gegevens over de sterfte tijdens de experimentele periode samengevat. Het verschil tussen het daarin vermelde totale en het effectieve aantal ratten wordt gevormd door de som van de dieren die tijdens de proefperiode opgevreten werden, zoekraakten of waarop - na een spontane dood - door een te sterke autolyse geen obductie meer kon worden verricht.

Conclusies

De belangrijkste conclusie die uit de verkregen resultaten kan worden getrokken is, dat beide gestelde hypothesen moeten worden verworpen: noch konden adenocarcinomen in een hoog percentage worden verkregen, noch ook kon tumorpromotie door acetosal worden aangetoond.

Van alle verschillen, die bij vergelijking van beide DMBA groepen werden gevonden, bleek alleen het verschil in sarcoomopbrengst (zie tabel 3) significant te zijn ($P < 0,05$). Dit wijst echter in de richting van een remmend effect op de ontwikkeling van deze tumoren door acetosal.

Hoofdstuk IV

DE GENESE VAN DE GEVONDEN MAAGAFWIJKINGEN

Hoewel de opzet van het eigen onderzoek niet primair was gericht op een exacte bestudering van de genese van de te verwachten maagafwijkingen, bleek het uiteindelijk verkregen materiaal voldoende aanknopingspunten te bieden om hieraan alsnog een beschouwing te wijden. Het belangrijkste aanknopingspunt was daarbij dat in vrijwel alle dieren uit de DMBA groepen maagulcera werden aangetroffen. Andere afwijkingen van benigne, pre-maligne of maligne aard stonden hiermee steeds ten nauwste in contact en leken er in enkele gevallen ook duidelijk in te zijn ontstaan. Deze bevindingen vormden aanleiding om het ulcus te beschouwen als basislesie van waaruit de ontwikkeling van alle andere afwijkingen zou kunnen worden verklaard. Over het ontstaan van het ulcus zelf kon het eigen materiaal echter geen informatie verschaffen: de ratten waren daarvoor in een te laat stadium afgemaakt. Enkele gegevens uit de literatuur boden hier evenwel uitkomst. Op deze wijze kon een theorie worden opgesteld over de genese van alle verkregen maagafwijkingen, zoals schematisch is weergegeven in tabel 7. Hieronder volgt daarvan een nadere bespreking.

Het ontstaan van een ulcus

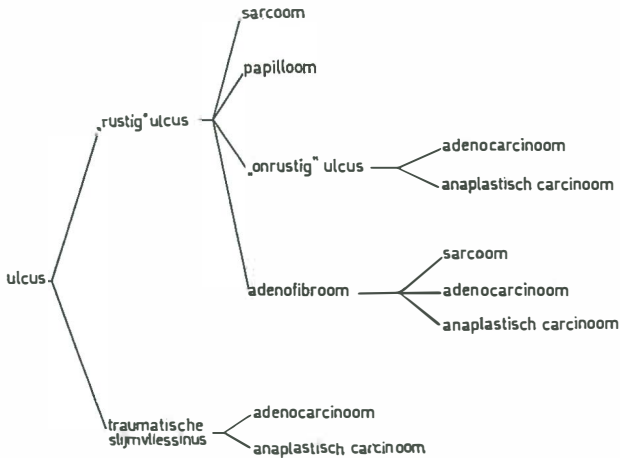
In verschillende publikaties zijn de vroege veranderingen beschreven, die zich na implantatie van een carriermateriaal met een carcinogene stof in de maagwand van de rat afspelen (HOWES en DE OLIVEIRA 1948; GRANT en IVY 1955; SOLOVEV e.a. 1963; WONG en GRANT 1965). Daarbij kunnen een tweetal stadia worden onderscheiden:

a. vorming van een ulcus.

Als acute reactie op het in de submucosa aangebrachte „vreemde” materiaal treedt binnen 24 uur ter plaatse infiltratie van

TABEL 7.

Schematisch overzicht over de genese van de gevonden maagafwijkingen.



eosinofiele en neutrofiele granulocyten op. Daarna ontwikkelt zich in de loop van meerdere dagen tot enkele weken langzamerhand een progressieve destructie van alle lagen van de maagwand, zodat er een ulcus ontstaat. Opvallend is in deze periode de geringe fibroblastenactiviteit.

b. epitheelproliferatie vanuit de ulcusrand.

Enige tijd nadat het ulcus tot stand is gekomen, gaat het epitheel in de rand prolifereren. Dit geeft aanleiding tot de vorming van een van de volgende typen afwijkingen (tabel 7):

1. „rustig” ulcus en
2. traumatische slijmvlies sinus.

Het „rustige” ulcus

Vanaf dertien tot zeventien weken na implantatie van DMBA kunnen in het ontstane ulcus tekenen van organisatie worden waargenomen (WONG en GRANT 1965). In de ulcusbodem vindt dan een sterke collageenvorming plaats, terwijl vanuit de randen de bodem weer grotendeels met epitheel wordt bekleed. Dit epitheel vormt ter plaatse atypische, slijmvormende klierbuisjes, waarin zoutzuur- en pepsinogeencellen ontbreken.

Uit het eigen materiaal blijkt dat de aldus tot stand gekomen lesie - die „rustig” ulcus wordt genoemd om het benigne karakter van het geregenereerde epitheel aan te duiden - lange tijd in deze vorm kan blijven bestaan (foto's 4 en 5). In de maag van 10 ratten uit groep I en van 18 uit groep II heeft zich gedurende de gehele experimentele periode naast deze lesie geen enkele andere afwijking ontwikkeld.

De vraag kan zich voordoen in hoeverre het ulcus wordt veroorzaakt door het carcinogeen en wat het eventuele aandeel in de geneze ervan is van het ingebrachte carriermateriaal. Uit de resultaten in de controlegroepen van het eigen experiment wordt duidelijk dat katoendraad alléén geen ulcus doet ontstaan. Dit materiaal werd bij alle betreffende dieren steeds in sterke mate afgekapseld in de submucosa teruggevonden, zonder dat daarbij sporen van vroegere ulceratie konden worden aangetoond (foto 1). Hieruit kan worden geconcludeerd, dat ulcusvorming een effect van het carcinogeen moet zijn geweest. HOWES en DE OLIVEIRA (1948), WONG en GRANT (1965) en MAJIMA e.a. (1967) kwamen tot soortgelijke bevindingen.

De traumatische slijmvlies sinus

Als het boven het draadje onstane ulcus spleetvormig is geweest en reeds voordat enige mate van organisatie is opgetreden het epitheel naar de diepte is gaan groeien, kan er een traumatische slijmvlies sinus ontstaan (HOWES en DE OLIVEIRA 1948). De met epitheel beklede spleet waarin het draadje is gelegen verliest dan na enige tijd over het grootste deel van zijn lengte het contact met het maaglumen, zodat in de submucosa rondom het draadje een geëpitheliseerd gangetje achterblijft (foto's 2, 3 en 12).

Uit het eigen materiaal blijkt, dat de traumatische slijmvlies sinus - zoals de naam al aanduidt - niet uitsluitend door de werking van een carcinogeen hoeft te ontstaan. Het trauma van het inbrengen van een „kaal” draadje is voor het opwekken ervan reeds voldoende. HOWES en DE OLIVEIRA (1948), die deze lesie - zij het onder andere naam - eerder beschreven, verklaarden dit door aan te nemen, dat bij het insteken van het draadje de mucosa even door de naald was aangeraakt, met als gevolg dat er een stukje epitheel in de sub-

mucosa was terecht gekomen. Dat zou dan rondom het draadje verder tot een gangetje zijn uitgegroeid.

In de literatuur zijn aanwijzingen te vinden die het specifieke van het ontstaan van slijmvliessinussen of daarop sterk gelijkende lesies bij knaagdieren bevestigen. Zij konden bijvoorbeeld eveneens worden opgewekt door:

- a. een kurkbal met korte harde stekels, die in de maag van de rat werd aangebracht (BULLOCK en ROHDENBURG 1918).
- b. injectie in de submucosa van vet, dat hoog verhit was geweest (ZALDÍVAR 1964).
- c. toevoeging van Tributyrin aan het voer van ratten (SALMON en COPELAND 1949).

Gezwelvorming vanuit een „rustig” ulcus

Het ontstaan van tumoren uit „rustige” ulcera kan als volgt worden verklaard: de ulcusbodem bestaat uit twee weefselcomponenten, het mesenchymale weefsel en het regenererende epitheel. Deze kunnen onder invloed van het aanwezige carcinogeen elk afzonderlijk, doch ook tezamen gaan prolifereren. Daarbij doen zich de volgende mogelijkheden voor (zie tabel 7):

- a. het mesenchymale weefsel gaat maligne degenereren en er ontstaat een sarcoom (foto's 10 en 11).
- b. er treedt proliferatie op van het regenererende epitheel, hetgeen kan leiden tot:
 1. groei in de richting van het maaglumen, zodat er zich een papilloom ontwikkelt (foto's 8 en 9). Carcinomen die uit deze premaligne tumoren zouden kunnen zijn ontstaan werden in het eigen onderzoek niet waargenomen.
 2. groei vanuit de ulcusbodem in de diepte, zodat er in eerste instantie een „onrustig” (pre-maligne) ulcus wordt gevormd (foto's 6 en 7).

In het eigen materiaal lijken de meeste carcinomen door verdere woekering van epitheel in de richting van de serosa uit deze lesie te zijn ontstaan. In de literatuur kwamen GRANT (1966) en MAJIMA e.a. (1966) tot soortgelijke bevindingen.

- c. zowel mesenchymale als epitheliale weefselbestanddelen gaan op nieuw groeien en geven aanleiding tot het ontstaan van een

adenofibroom (foto's 13 t/m 16). Bij verdergaande maligne ont-aarding kan zich uit het adenofibroom een meer of minder ge-gedifferentieerd carcinoom of een sarcoom ontwikkelen.

Het ontstaan van een adenocarcinoom uit een adenofibroom wordt met behulp van foto's 16 en 17 geïllustreerd; op de foto's 14 en 15 is te zien, dat in de rand van een adenofibroom het epitheel pre-maligne kenmerken is gaan tonen.

Twee soorten gezwellen, fibromen en carcinosarcomen, waarvan de ontstaansmogelijkheid volgens dit schema theoretisch gezien aanwezig zou moeten zijn, werden in het eigen materiaal niet aangetroffen. Wel konden in het oppervlak van enkele sarcomen buisjes worden gezien, doch deze leken niet aan het tumorproces deel te nemen. Zij waren steeds geregredieerd.

Bij de hierboven beschreven hypothesen werd uitgegaan van de veronderstelling, dat alle uit het „rustige” ulcus ontstane tumoren specifiek door het carcinogeen zouden zijn opgewekt. Het eigen onderzoek wettigt ook geen andere conclusie. Uit een publikatie van ODASHIMA (1968) blijkt echter, dat één van de lesies - het adeno-fibroom - ook op niet specifieke wijze kan worden verkregen. Deze auteur zag namelijk in enkele controleratten van een maagcarcinoom-experiment, waarbij een waspelt in een kunstmatig aangebracht divertikel van de maagwand was geplaatst, na verloop van tijd ter plaatse een benigne adenomateus gezwel ontstaan. Buisjes hiervan drongen in één geval tot in de muscularis propria door.

Tumorgroei vanuit een traumatische slijmviessinus

Uit de „basislesie”, het ulcus, kan, zoals gemeld, een slijmviessinus ontstaan. In deze sinus bevindt zich dan steeds een draadje met DMBA, dat in nauw contact staat met het bekledende epitheel. Het lijkt aannemelijk, dat het carcinogeen in deze situatie gemakkelijk carcinomen zou kunnen induceren (tabel 7). Deze theorie wordt gesteund door het feit, dat in slijmviessinussen uit de DMBA groepen een veel sterkere atypie van het epitheel werd aangetroffen dan in sinussen uit de controlegroepen. Laatstgenoemde gangetjes waren bovendien goed afgekapseld, hetgeen bij de eerstgenoemden zeker niet het geval was.

Duidelijke voorbeelden van op deze wijze ontstane carcinomen

werden in het eigen materiaal niet gevonden. Aangezien echter bij enkele carcinomen slechts naar de oorsprongslesie ervan kon worden gegist, is de hier beschreven mogelijkheid geenszins uitgesloten. Dit geldt temeer daar HOWES en DE OLIVEIRA (1948) en SOLOVEV e.a. (1963) wel een dergelijke ontstaanswijze meenden te kunnen aantonen.

SLOTBESCHOUWING

„Omnis comparatio claudicat”

Maagcarcinomen die infiltratief groeien in naburige organen of die kunnen metastaseren zijn bij proefdieren moeilijk op te wekken. Dit blijkt uit de verschillende experimenten die in de hoofdstukken I en II werden besproken. Daarbij kon ondanks de toepassing van vele carcinogenen en applicatiewijzen geen hoog percentage van dergelijke tumoren worden verkregen. Het hier gerapporteerde onderzoek vormt daarop geen uitzondering. In dit experiment werden een techniek en een carcinogeen gecombineerd die elk apart een relatief hoog percentage maligne gezwellen van de kliermaag leken te kunnen opleveren. Daarin werd tevens onderzocht of toevoeging van acetosal aan het voer van één van de groepen dieren door middel van een chronische aspecifieke prikkeling van het maagslijmvlies een tumorpromotie zou kunnen bewerkstelligen. Geen van beide hypothesen kon worden bevestigd, doch het lijkt niettemin zinvol de resultaten van het onderzoek nog eens aan een nadere beschouwing te onderwerpen. Dit zal geschieden aan de hand van een vergelijking met de resultaten van het experiment van HARE e.a. (1952; zie blz. 12) en dat van SKORYNA en RITCHIE (1960; zie blz. 13). Deze onderzoeken zijn hiervoor het meest geschikt omdat in beide gevallen, evenals in het eigen experiment, een carcinogeen uit de reeks van de aromatische koolwaterstoffen in de submucosa van de kliermaag van een groep ratten werd aangebracht, waarna de dieren gedurende een lange tijd ongemoeid werden gelaten. Daarbij komt nog dat in het eigen experiment vrijwel dezelfde maligniteitscriteria werden gehanteerd als in dat van HARE e.a., terwijl het eigen onderzoek met het experiment van SKORYNA en RITCHIE de draadtechniek gemeen had.

De resultaten van de drie onderzoeken zijn in tabel 8 samengevat. Daarin hebben de gegevens over het eigen experiment betrekking op de som van de resultaten in de groepen I en II.

TABEL 8.

Schematisch overzicht over de resultaten van het eigen experiment, het onderzoek van Hare e.a. (1952) en het experiment van Skoryna en Ritchie (1960).

	Eigen onderzoek (Groep I+II) DMBA draadjes	Hare e.a. ^x MCA injectie	Skoryna en Ritchie MCA draadjes
Effectief aantal ratten	122	265	192
Adenocarcinomen	6 (2)*	4 (2)*	25
Anaplastische carcinomen	4	0	0
Adenoacanthomen ^o	0	4 (1)*	15
Carcinosarcomen	0	3	0
„Divertikels”	0	220	128
„Onrustige” ulcera	9	0	0
Adenofibromen	28	0	0
Sarcomen	49	16	39
Duur experiment	17 mnd.	onbeperkt †	18 mnd.

* Het aantal tumoren dat was gemetastaseerd is tussen haakjes geplaatst.

† Tot op het tijdstip waarop de dieren spontaan dreigden te succumben en werden afgemaakt.

^o Deze gezwellen werden als maligne beschouwd.

^x Naast de genoemde lesies werd door Hare e.a. nog één ongedifferentieerde maligne tumor aangetroffen.

Wat de opbrengst aan maligne tumoren betreft valt op, dat het eigen onderzoek een beduidend groter aantal zuivere carcinomen (10) heeft opgeleverd dan dat van HARE e.a. (4). Een vergelijking met de resultaten van het experiment van SKORYNA en RITCHIE wordt bemoeilijkt door het feit, dat genoemde auteurs kennelijk minder strenge maligniteitscriteria hebben gehanteerd. Zij vermeldden een adenomateus gezwel als maligne te beschouwen als de samenstellende buisjes cytologisch sterk atypisch waren en als daarbij tevens enkele van de buisjes buiten de centrale tumormassa waren gelegen, omgeven

door weinig stroma. De ruimere opvatting die zij aan het begrip maligniteit hebben gegeven wordt weerspiegeld in het feit dat door hen op een relatief groot aantal carcinomen geen enkel geval van metastasering kon worden gezien.

Het aantal sarcomen was in het eigen onderzoek groot. De reden hiervoor - waarschijnlijk het gebruik van een sterker carcinogeen - is mogelijk dezelfde als waarom ook een groter aantal carcinomen werd verkregen.

Het eigen experiment lijkt een kleiner aantal benigne en premaligne gezwellen te hebben opgeleverd dan de beide andere. Uit de beschrijving van de „divertikels” zoals die door SKORYNA en RITCHIE werd gegeven blijkt echter, dat het hier voornamelijk afwijkingen betreft die bestaan uit uitbochtungen van de maagwand, welke met min of meer atypisch epitheel zijn bekleed en waarin zich in een niet nader genoemd aantal gevallen cysteuze gezwellen hebben ontwikkeld. Ter plaatse van de uitbochting is de maagwand daarbij steeds door fibreus weefsel vervangen. Een analogie met de „rustige” en „onrustige” ulcera uit het eigen onderzoek ligt hier voor de hand. Deze hebben namelijk vrijwel dezelfde structuur en ook daarin zijn vaak cysteuze tumoren (adenofibromen) ontstaan (zie blz. 28). Het verschil kan hierdoor voor een belangrijk deel worden verklaard. In hoeverre de boven beschreven analogie ook van toepassing is op de adenomateuze divertikels van HARE e.a. is niet geheel duidelijk. Deze lesies zouden volgens de beschrijving meer adenofibroomachtige componenten bevatten dan de „divertikels” van SKORYNA en RITCHIE. Uit de publikatie van HARE e.a. blijkt echter dat zij ook wel aan vroegere stadia, die overeenkomst tonen met de ulcera en de slijmvliessinussen uit het eigen materiaal, de naam adenomateus divertikel hebben gegeven. Hierdoor lijkt ook in dit geval het verschil met het eigen onderzoek minder groot te zijn dan uit een vergelijking van de cijfers alleen blijkt.

Bovendien kunnen enkele van de verschillen wellicht worden verklaard door de subjectief getrokken en veelal bijzonder vage grens tussen goedaardigheid en kwaadaardigheid. Zelfs met duidelijk omschreven maligniteitscriteria blijft het in vele gevallen moeilijk om tussen deze mogelijkheden te differentiëren. Deze ervaring uit het eigen onderzoek werd gedeeld door HARE e.a. en SKORYNA en RIT-

CHIE. Het criterium infiltratieve groei bleek het lastigst te hanteren. Dit was met name vaak het geval in het grensgebied tussen een buisjesvormend gezwel en de lever, waar het onderscheid tussen galgangproliferatie vanuit de lever en infiltratief groeiend tumorweefsel uit de maag soms vrijwel niet viel te maken (zie foto 29). De proliferatie van galgangen in dit gebied werd in het eigen experiment geduid als een gevolg van het carcinogeen, dat ter plaatse steeds een chronische ontsteking had veroorzaakt. Deze galgangen waren echter in geen enkel geval maligne gedegeneerd en stonden ook niet in verband met de in hoofdstuk III vermelde levertumoren. Van laatstgenoemde lesies werd, gezien de spreiding over de diverse groepen (zie tabel 5, blz. 31), vermoed, dat ze „spontaan” waren ontstaan.

Samenvattend kan worden gesteld dat het eigen onderzoek vergeleken met overeenkomstige experimenten uit de literatuur een relatief groot aantal zuiver epitheliale gezwellen van de kliermaag heeft opgeleverd die aan stringent gestelde maligniteitscriteria voldoen. Deze tumoren bleken zelfs in staat om te metastaseren.

Ondanks de vrij gunstige resultaten vormt het experiment voorts nog echter een weinig ideaal model voor de bestudering van het maagcarcinoom in het algemeen. De hiermee verkregen mogelijkheid tot het opwekken van carcinomen biedt niettemin goede aanknopingspunten voor verder onderzoek.

Mogelijkheden voor nader onderzoek

De laatste jaren is de kennis over de weerstand die een proefdier kan bieden aan gezwelgroei sterk toegenomen. Dit is vooral te danken aan een belangrijke ontwikkeling op het gebied van de tumorimmunologie. Het immunologisch apparaat van proefdieren blijkt in staat te zijn om kleine hoeveelheden tumorcellen te elimineren (KLEIN 1968, 1969; ALEXANDER 1966). Omgekeerd kan de uitgroei van door chemische stoffen of virussen opgewekte gezwellen door het onderdrukken van de werking van het immunologisch apparaat worden bevorderd. Deze immunosuppressie kan worden verkregen door totale lichaamsbestraling, neonatale thymectomie of behandeling met anti lymfocyten serum (ALS). Op het eerste gezicht lijkt dit goede mogelijkheden te bieden voor toepassing bij maagcarcinoomexperimenten, doch aan de genoemde behandelingen kleven grote

bezwaren: bij totale lichaamsbestraling kunnen op vele plaatsen in het lichaam tumoren ontstaan (CASTANERA e.a. 1968), neonatale thymectomie kan een lethaal „wasting” syndroom veroorzaken (LAW 1966) en ALS toediening kan een sterk verhoogde mortaliteit tot gevolg hebben (BALNER en DERSJANT 1969). Bovendien hebben thymectomie en ALS toediening het bezwaar dat ze het verschijnen van verhoudingsgewijs sterk antigene tumoren bevorderen. Laatstgenoemde gezwellen, die na immunosuppressieve behandeling vrij snel ontstaan, zouden minder gemakkelijk metastaseren dan onder „normale” omstandigheden geïnduceerde, later ontstane tumoren (KLEIN 1969; KIM 1970).

Als laatste bezwaar geldt nog dat deze relatief sterk antigene tumoren waarschijnlijk ook minder goed kunnen worden getransplanteerd (NOMOTO en TAKEYA 1969). Daarmee lijkt een theoretisch aantrekkelijke mogelijkheid om een eenmaal verkregen maagcarcinoom op deze wijze meer intensief te bestuderen te vervallen.

Om zonder bovengenoemde ingrijpende methoden toch de kans op metastasering van eenmaal ontstane maagtumoren te vergroten, zou wellicht miltexcisie kunnen worden toegepast. In de milt lijken namelijk vele door niet metastaserende tumoren afgegeven tumoremboli te kunnen worden weggevangen (KIM 1966).

Het verband tussen bestaande experimentele gegevens en de menselijke pathologie

In het stadium waarin het experimentele maagcarcinoomonderzoek zich op dit moment bevindt is het bijzonder moeilijk, zo niet onmogelijk, duidelijke parallellen met de menselijke pathologie te trekken. De etiologie van het menselijke maagcarcinoom is nog volledig duister. Wellicht vormt op dit punt het artikel van LIJINSKI en EPSTEIN (1970) waarin de mogelijkheid van het ontstaan van nitrosamines in de maag wordt beschreven een verbindingsschakel tussen experimentele gegevens (zie hoofdstuk II) en de menselijke pathologie. Experimenten over het verband tussen atrofie van het maagslijmvlies, intestinale metaplasie en maagcarcinoom - een onderwerp dat in de menselijke pathologie een punt van discussie vormt - hebben tot het inzicht in de bedoelde relatie niets bijgedragen. De belangrijkste reden hiervoor was dat slijmvliesatrofie en intestinale metaplasie zich in

het experiment vrijwel niet lieten opwekken, dit in tegenstelling tot wat KOWALEWSKI en KASPER (1967) in een eerder aangehaalde publikatie (zie blz. 13) beweerden.

Het eigen experiment heeft aangetoond dat maagcarcinomen in chronische ulcera kunnen ontstaan. Het etiologische verschil met het „ulcuscarcinoom” bij de mens is hier echter zo evident dat vergelijkingen bijzonder hachelijk worden. De enige conclusie die eruit kan worden getrokken is, dat in het experiment een duidelijk verband werd gevonden tussen de aanwezigheid van regenererend epitheel en het ontstaan van een carcinoom, een verband dat eerder voor de mens door PLANTEYDT werd gepostuleerd (1961).

Verdere parallellen tussen experimenteel en menselijk maagcarcinoom zullen pas dan kunnen worden getrokken als het mogelijk zal zijn bij proefdieren in een hoog percentage maagcarcinomen te induceren, die in hun biologisch gedrag niet afwijken van die van de mens. In dat stadium is het experimentele onderzoek echter nog steeds niet aangeland.

SAMENVATTING

In dit proefschrift worden de resultaten weergegeven van een experiment waarin werd getracht om bij de rat maagcarcinoom op te wekken. De bedoeling hiervan was een reproduceerbaar model te verkrijgen, waarmee dit gezwel nader zou kunnen worden bestudeerd.

In hoofdstuk I wordt als eerste de anatomie van de maag van enkele proefdieren besproken. Daaruit blijkt dat in de maag van de muis en in die van de rat twee soorten maligne epitheliale gezwellen kunnen ontstaan, adenocarcinomen van de kliermaag en plaveiscelcarcinomen van de voormaag. Tevens wordt hierin vermeld dat spontane maagcarcinomen bij proefdieren zeer weinig frequent voorkomen. Van de in de literatuur beschreven methoden waarmee werd getracht carcinomen van de kliermaag op te wekken, blijken die waarbij gebruik werd gemaakt van carcinogene stoffen de meest relevante informatie te hebben opgeleverd.

In hoofdstuk II worden de meeste experimenten waarbij met behulp van carcinogene stoffen kliermaagcarcinomen konden worden geïnduceerd besproken. Hoewel door de verschillende onderzoekers vele carcinogenen en toedieningstechnieken werden aangewend, slaagde niemand erin deze tumoren in een hoog percentage te verkrijgen. Van de weinige gezwellen die als carcinoom werden geduid waren bovendien slechts enkele gemetastaseerd. Als de resultaten van de diverse auteurs worden beoordeeld aan de hand van de maligniteitscriteria die in 1940 door KLEIN en PALMER voor experimentele maagcarcinomen werden opgesteld, moet worden geconcludeerd dat de onderzoeken van STEWART en medewerkers de meest waardevolle bijdragen hebben geleverd.

In hoofdstuk III wordt het eigen onderzoek beschreven. Daarin werd gepoogd door het combineren van een sterk werkzaam carcinogeen en een relatief succesvol gebleken toedieningstechniek, bij de

rat in een hoog percentage maagcarcinomen op te wekken die aan strenge maligniteitscriteria zouden voldoen. Daartoe werden in de submucosa van de kliermaag van een groep ratten twee draadjes aangebracht die tevoren waren gedrenkt in gesmolten dimethylbenz-anthraceen. Tevens werd bij één van de groepen dieren acetosal aan het voer toegevoegd teneinde een tumorpromotie te verkrijgen. Toen na 17 maanden de ratten werden afgemaakt bleken in slechts wenige dieren maagcarcinomen te zijn ontstaan. Deze waren echter wel in enkele gevallen gemetastaseerd. Een de tumorontwikkeling bevorderend effect van acetosal kon niet worden aangetoond. In vele dieren werden sarcomen of andere lesies van de maagwand aangetroffen zoals ulcera en adenofibromen.

In hoofdstuk IV wordt een theorie over de genese van de gevonden maagafwijkingen opgesteld. Hierin wordt het in de maagwand gebrachte carcinogeen verantwoordelijk geacht voor het ontstaan van een chronisch ulcus, de basislesie van waaruit zich alle andere afwijkingen kunnen ontwikkelen. Door proliferatie van de in het ulcus aanwezige weefselsoorten, het regenererende epitheel en het mesenchymale weefsel, kunnen epitheliale, gemengd epitheliaal-mesenchymale of mesenchymale gezwellen worden gevormd.

In hoofdstuk V worden de resultaten van het eigen onderzoek vergeleken met die van soortgelijke experimenten uit de literatuur. Daaruit wordt geconcludeerd dat waar het maagcarcinomen van de rat betreft, die kunnen metastaseren en die niet zijn gemengd met sarcomateuze of plaveiselcelachtige componenten, het resultaat in het eigen onderzoek verhoudingsgewijs het beste was. Dit experiment biedt daarom aanknopingspunten voor verder onderzoek. Aan het slot van dit hoofdstuk wordt gesteld, dat het experimentele onderzoek thans nog te weinig ver is gevorderd om tot vermeerdering van het inzicht in de problemen van het menselijke maagcarcinoom te kunnen bijdragen.

SUMMARY

This thesis is based on the results of experiments on the induction of stomach carcinoma in rats. Its aim was to obtain a reproducible model in order to study this tumour more closely.

In Chapter I the anatomy of the stomach of some experimental animals is first discussed. From this it is evident that from the stomach of mice and rats two kinds of malignant epithelial neoplasms may arise, adenocarcinomas of the glandular stomach and squamous cell carcinomas of the forestomach. The fact that spontaneous carcinomas of the stomach occur very infrequently in experimental animals is also discussed. Of the methods described in the literature that have been used to induce carcinomas of the glandular stomach, those in which chemical carcinogens were employed appear to have yielded the most relevant information.

In Chapter II most of the experiments in which carcinomas of the glandular stomach have been induced by chemical carcinogens are discussed. Although many carcinogens and different techniques of administration were used by the various investigators, none succeeded in obtaining these tumours in a high percentage. Furthermore, of the few neoplasms designated as carcinomas, only some had metastasized. When the results of the various authors are judged by the criteria of malignancy drawn up by KLEIN and PALMER in 1940, it must be concluded that the investigations of STEWART *et al.* make the most valuable contribution.

In Chapter III the author describes his own experiments. By combining a potent carcinogen and a relatively successful technique of administration, the attempt was made to induce stomach carcinomas in a high percentage of rats, with due regard to strict criteria of malignancy. For this purpose two threads previously soaked in melted dimethylbenzanthracene were introduced into the sub-

mucosa of the glandular stomach of rats. In addition acetosal was administered to the feed of one group of animals to obtain tumour promotion. When the rats were killed after 17 months only a few had developed tumours. However, there was clear evidence of metastases in a few instances. A tumour-promoting effect of acetosal could not be demonstrated. In many animals sarcomas or other lesions of the stomach wall were found, such as ulcers and "adenofibromas".

A theory on the genesis of the stomach lesions so induced is set out in Chapter IV. The carcinogen introduced into the stomach wall is considered responsible for the development of a chronic ulcer as the basic lesion from which all other lesions can arise. By proliferation of the various tissue types present in the ulcer (regenerating epithelium and mesenchymal tissue) epithelial, mixed epithelial-mesenchymal or mesenchymal tumours can form.

In Chapter V the results of the author's experiments are compared with similar experiments in the literature. This comparison indicates the superiority of the author's method for the production of stomach carcinomas in the rat, with the potentiality to metastasize and not compounded with sarcomatous or squamous cell like elements. This work thus offers a good basis for further investigation. At the end of the Chapter it is stated that presently the experimental research is not sufficiently far advanced to increase our insight into the problems of human gastric carcinoma.

FOTO'S

N.B. Daar vele van de gefotografeerde afwijkingen zich bevinden in het grensgebied tussen maag en lever (zie blz. 29), is laatstgenoemd orgaan op diverse foto's aan de onderzijde van de lesie zichtbaar. Voor zover niet anders is vermeld, zijn de coupes gekleurd met haematoxyline-eosine.

a = afgemaakt

† = spontaan gestorven

d = dagen

x = vergroting



Foto 1. Ligging van een katoendraadje in de submucosa van de kliermaag. 17 x.
Groep V, a. 519 d.



Foto. 2. Traumatische slijmvlies sinus, ontstaan rondom een draadje; dwars getroffen. Het gangetje in de submucosa is langs een hechting uitgroeid tot beneden de muscularis propria, in het grensgebied tussen maag en lever. 29 x, Groep V, a. 519 d.



Foto 3. Traumatische slijmvlies sinus, in de lengte getroffen. Het bekleedende epitheel lijkt op sommige plaatsen sterk op normaal maagslijmvlies, op andere plaatsen (rechts op de foto) is het atypisch. In het lumen van de sinus enige celdebris. 14 x.
Groep III, a. 519 d.

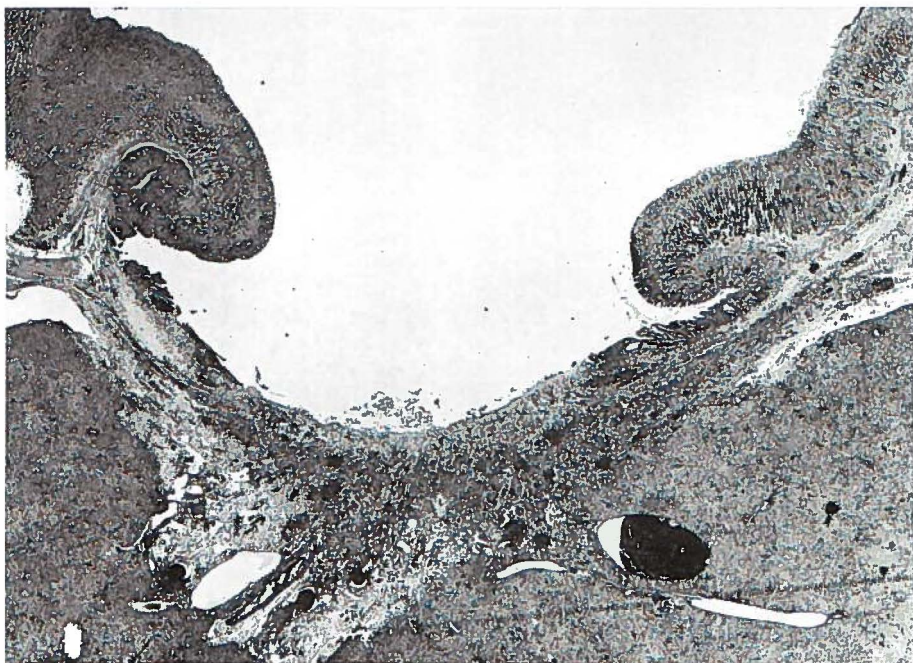


Foto 4. „Rustig” ulcus, penetrerend in de lever. In de bodem minimale regeneratie van het slijmvlies. 12 x. Groep I, † 383 d.



Foto 5. Regeneratie van slijmvlies in de bodem van een „rustig” ulcus. De enigszins atypische buisjes tonen nergens tekenen van een verhoogde mitotische activiteit, kernpolymorfie of infiltratieve groei. 24 x. Groep I, a. 519 d.

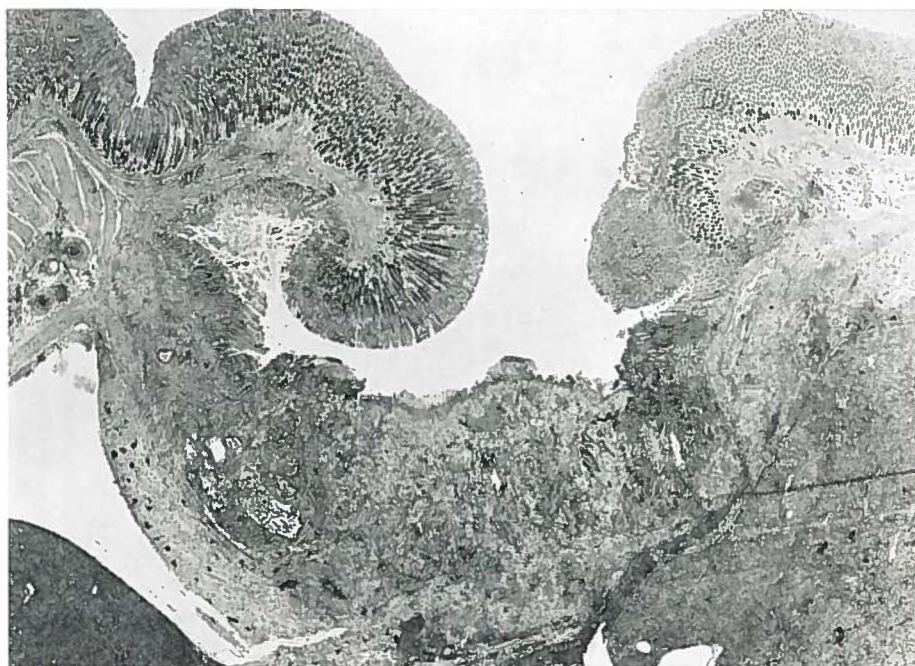


Foto 6. „Onrustig” ulcus. Regenererende slijmvliesbuisjes groeien in de bodem. 13 x. Groep I, a. 343 d.

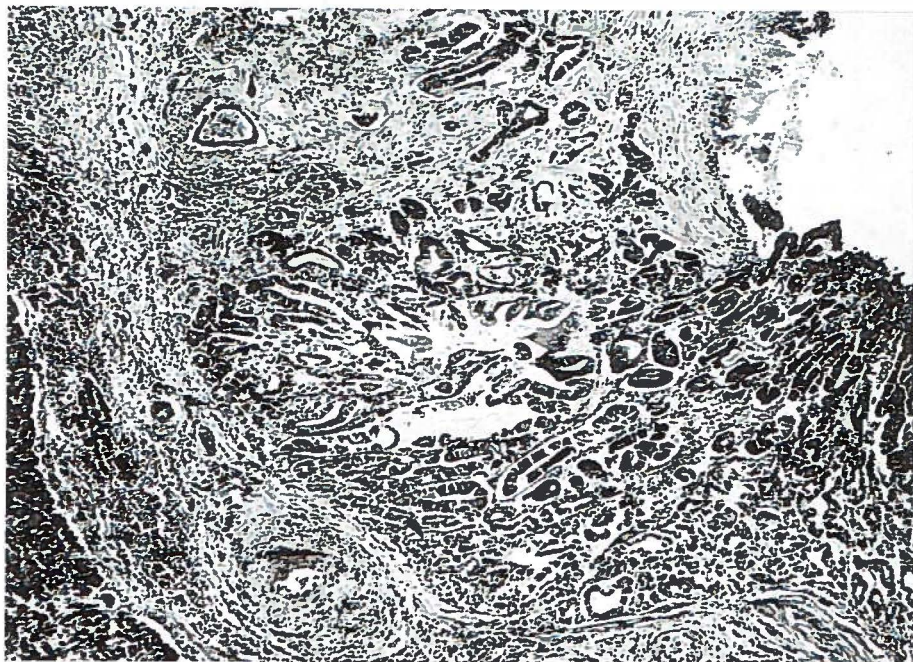


Foto 7. Detailvergroting van de rechterrands van het „onrustige” ulcus uit foto 6. Atypische buisjesstructuren groeien tot aan de grens met de lever. 58 x.

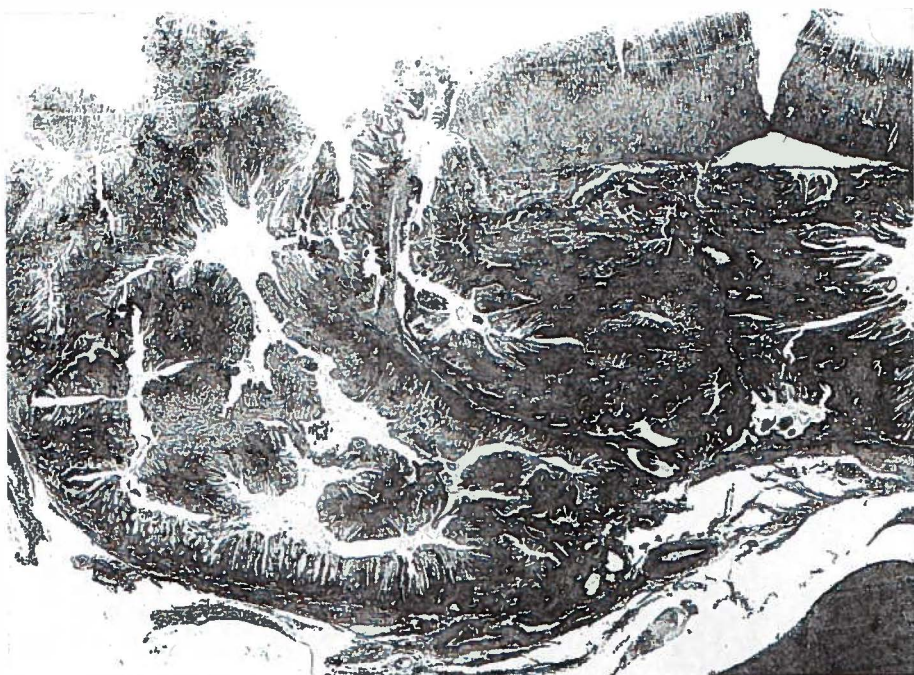


Foto 8. Papilloom, ontstaan in de bodem van een ulcus. In de steel van deze pre-maligne tumor bevinden zich vele atypische buisjes met een groot aantal mitosen. Nergens is echter infiltratieve groei door alle lagen van de maagwand. 12 x. Groep II, a. 519 d.

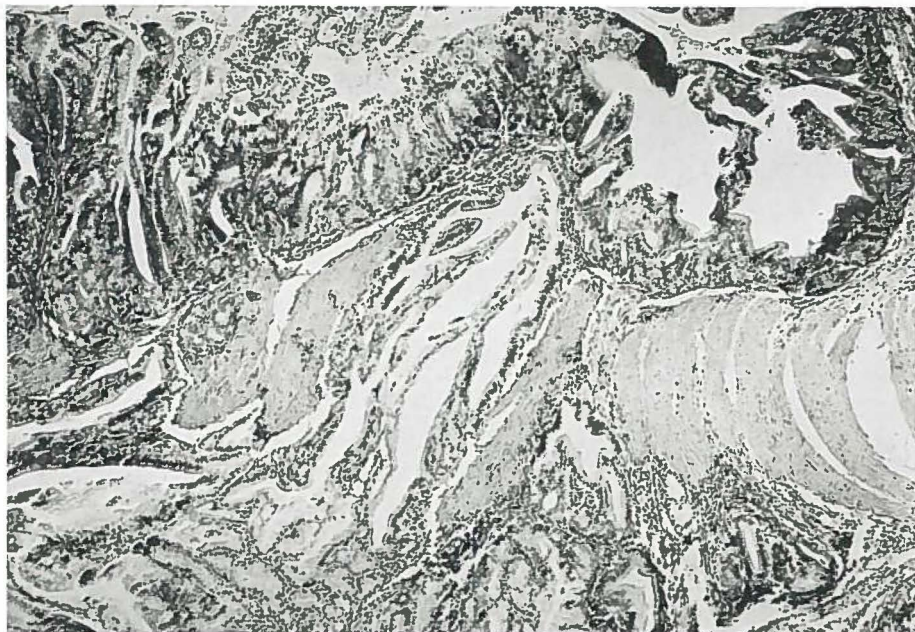


Foto 9. Detail van een papilloom. Slechts één van de spierlagen van de maagwand wordt door tumorbuiscjes doorbroken, een reden om het gezwel nog als pre-maligne te beschouwen. 58 x. Groep I, a. 519 d.



Foto 10. Sarcoom, ontstaan in de bodem van een ulcus. Op drie plaatsen zijn donkere haarden van kernrijk sarcomateus weefsel te zien. 7 x. Groep II, a. 519 d.



Foto 11. Detail van de meest links gelegen sarcoomhaard uit foto 10. Sterke kernpolymorfie met enkele mitosen. 360 x.

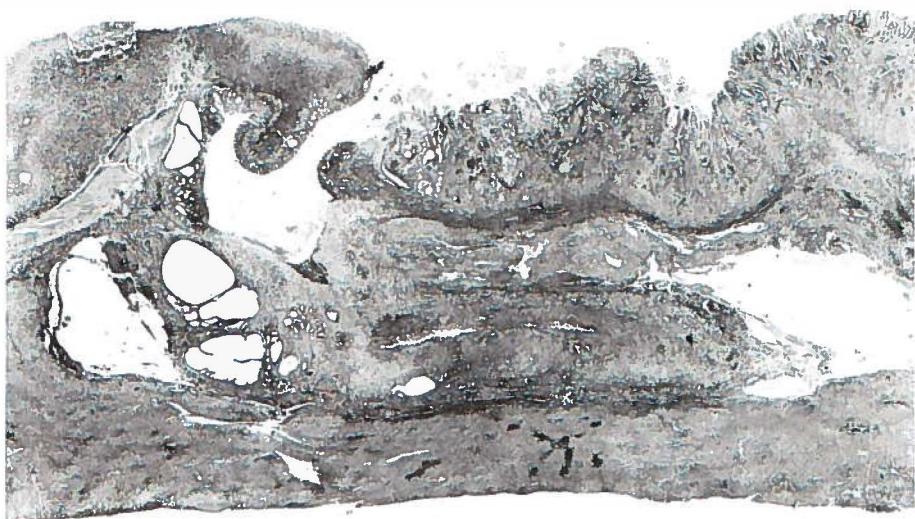


Foto 12. Voorbeeld van lesies die in een ulcusbodem zijn ontstaan: midden links de aanzet tot een adenofibroom; midden onder een traumatische slijmvlies sinus, waarvan de buisjes tot vrij ver in het omgevende bindweefsel zijn doorgedrongen. 7 x.
Groep II, a. 519 d.

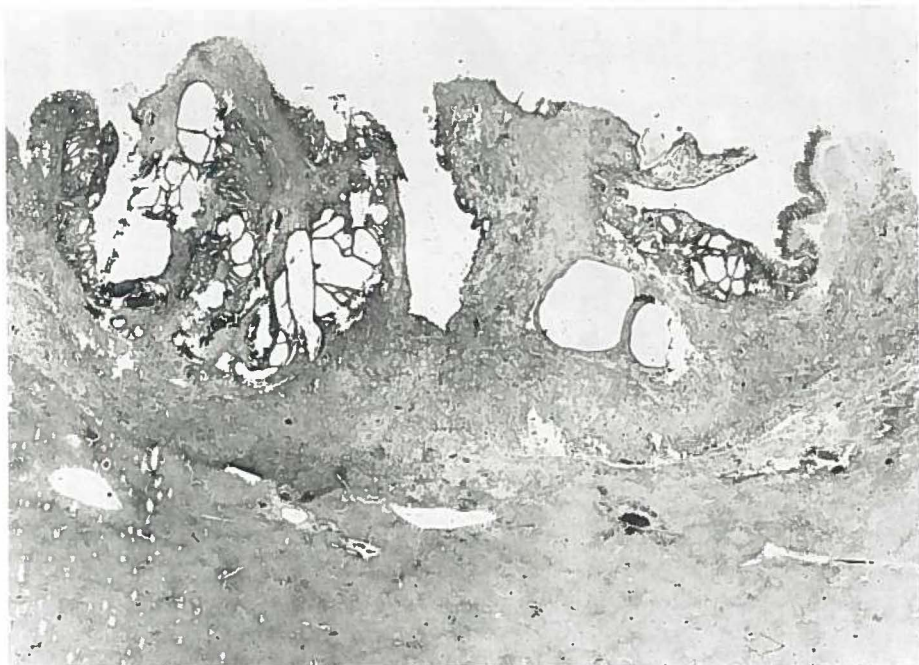


Foto 13. Adenofibroom in de bodem van een „rustig” ulcus. Het benigne gezwel is opgebouwd uit cysteuze buisjesstructuren, omgeven door relatief veel stroma. 7 x.
Groep I, a. 519 d.



Foto 14. Adenofibroom in de bodem van een ulcus. Het gezwel toont aan de randen een sterke buisjesatypie. (zie foto 15) en wordt daarom pre-maligne genoemd. 12 x.
Groep II, a. 519 d.

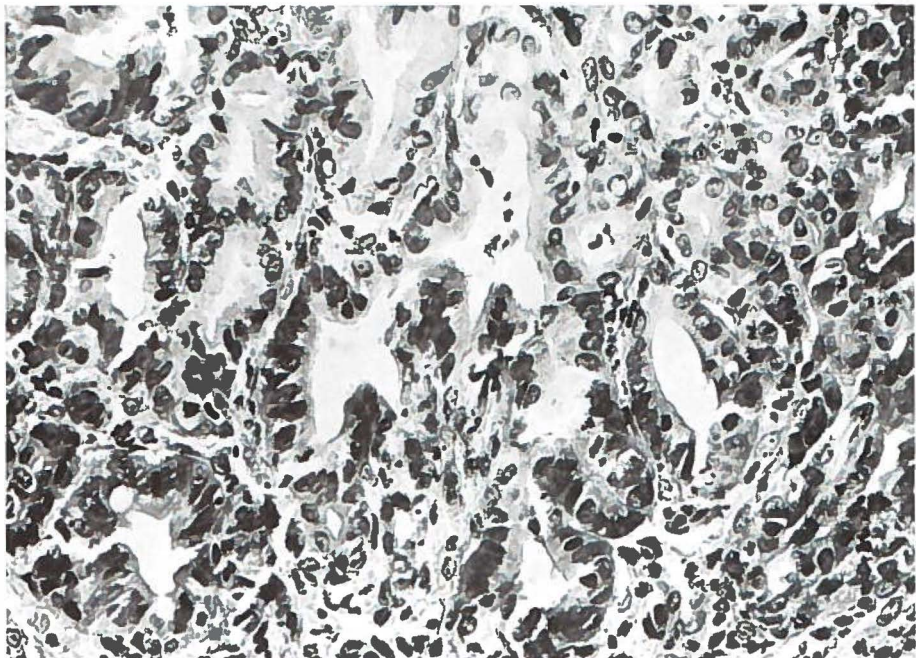


Foto 15. Detail uit de rechter onderrand van het adenofibroom uit foto 14. De atypische buisjes tonen een sterke kernpolymorfie en een aantal mitosen. 360 x.

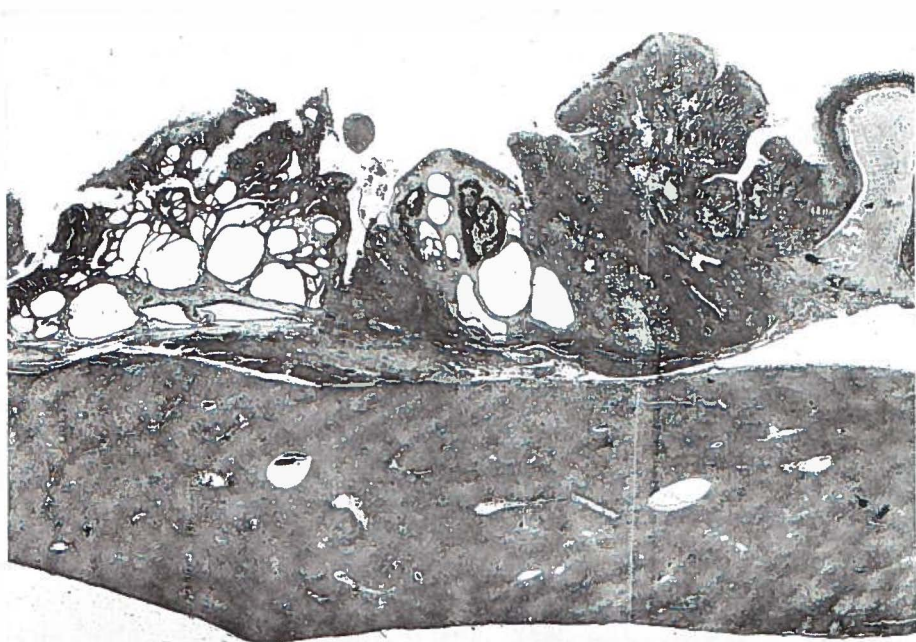


Foto 16. Twee verschillende gezwellen in de bodem van een ulcus: links een adenofibroom en rechts een adenocarcinoom. De tumoren gaan duidelijk in elkaar over. In het midden botvorming in het stroma van het adenofibroom. 7 x. Groep I, a. 519 d.



Foto 17. Dieper gesneden coupe van het adenocarcinoom uit foto 16. De tumor heeft alle lagen van de maagwond doorbroken. In het lumen van enkele buisjes enige leucocyten bevattende debris. 12 x.



Foto 18. Adenocarcinoom. Dit gezwel is opgebouwd uit onregelmatige buisjesachtige structuren, gelegen in een plaatselijk zeer collageenrijk stroma. 7 x. Groep II, † 437 d.

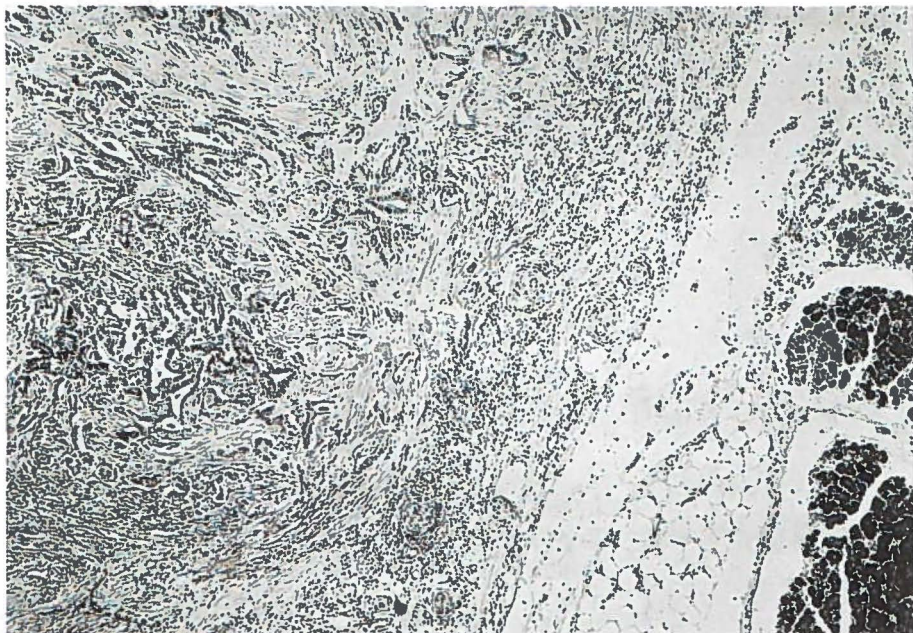


Foto 19. Detail van het adenocarcinoom uit foto 18. De tumor groeit niet in het pancreas door. 58 x.

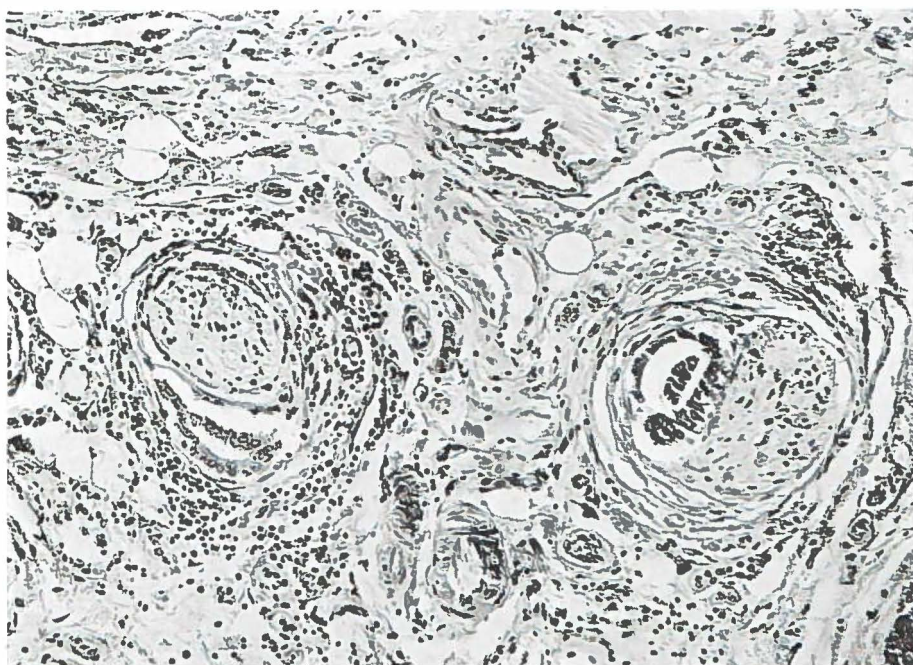


Foto 20. Doorgroei van tumorbuiscjes in perineurale lymfscheden van het mesenterium van de rat uit de foto's 18 en 19. 140 x.

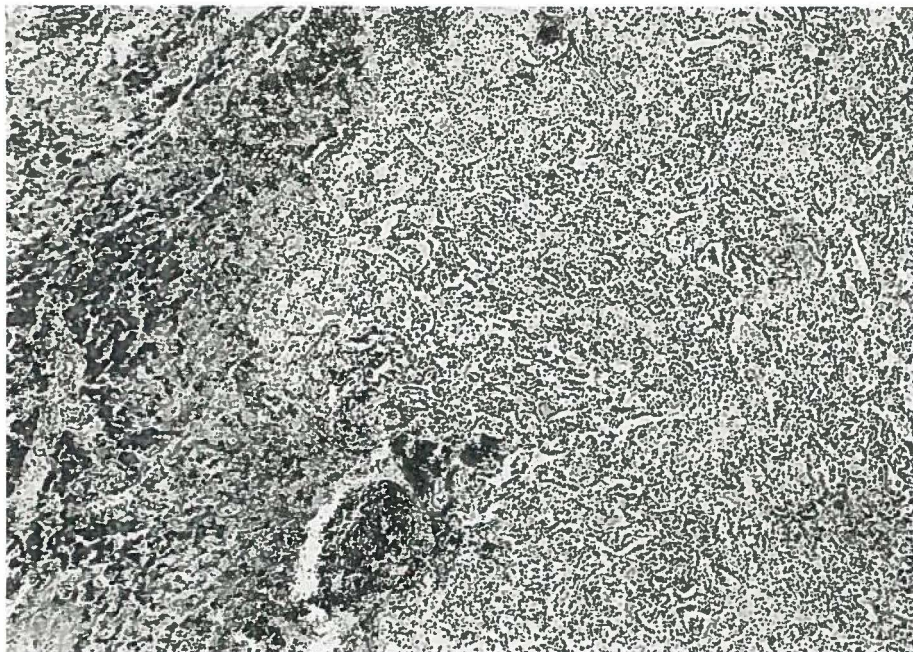


Foto 21. Adenocarcinoom, vanuit de maagwand diffuus doorgroeïend in de lever. 58 x.
Groep II, † 372 d.

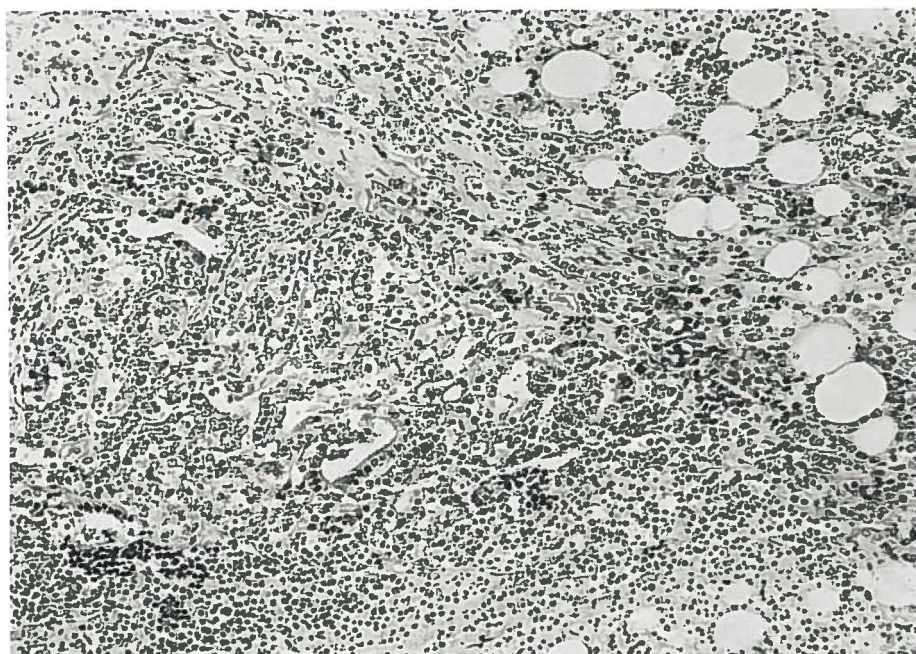


Foto 22. Doorgroei van het adenocarcinoom uit foto 21 in het mesenterium. Midden op de foto zijn duidelijke buisjesstructuren te herkennen. 140 x.

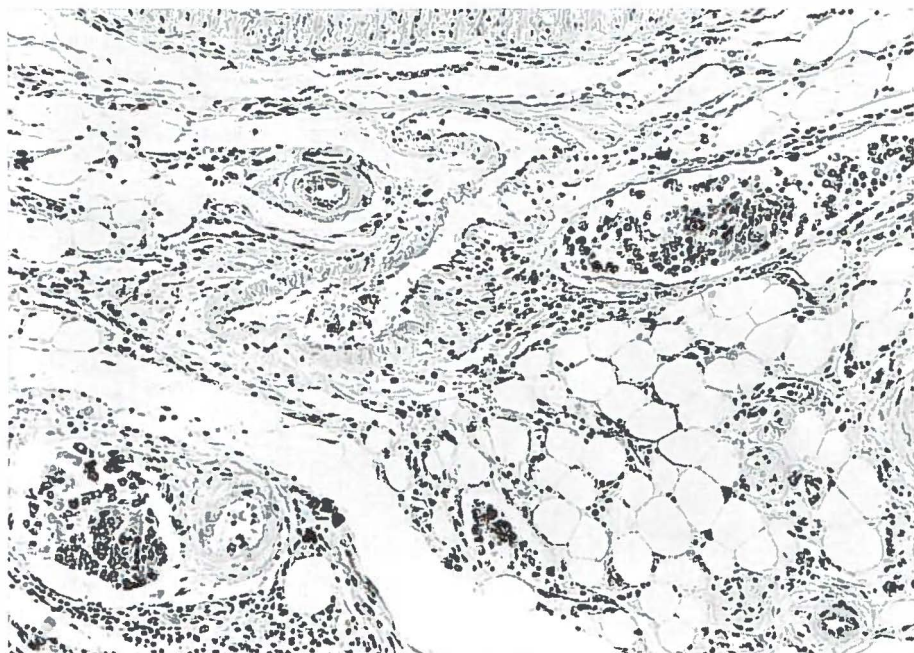


Foto 23. Tumoremboli in mesenteriale lymfvaten van de rat uit de foto's 21 en 22. 140 x.

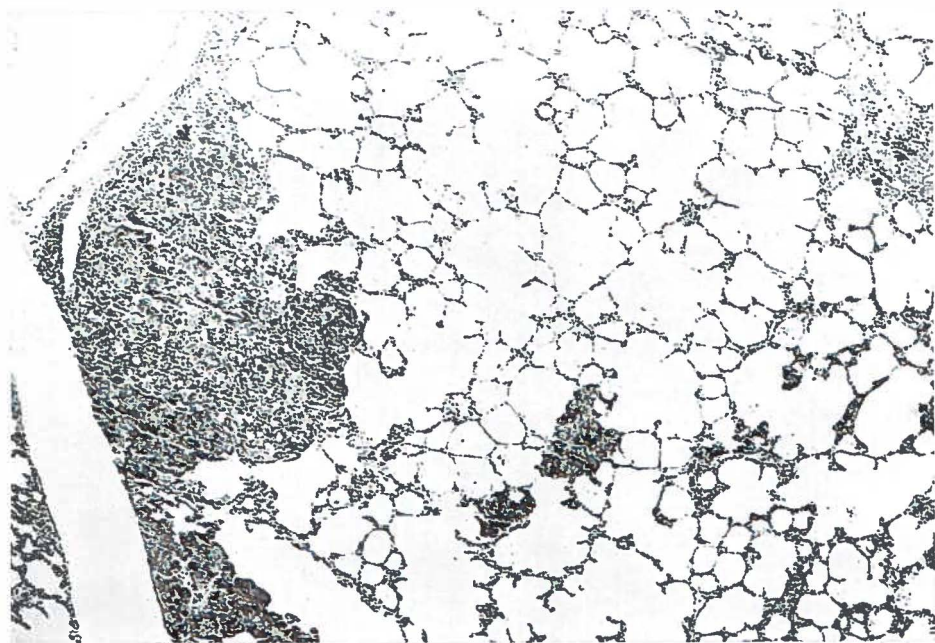


Foto 24. Longmetastasen van het adenocarcinoom uit de foto's 21, 22 en 23. 58 x.

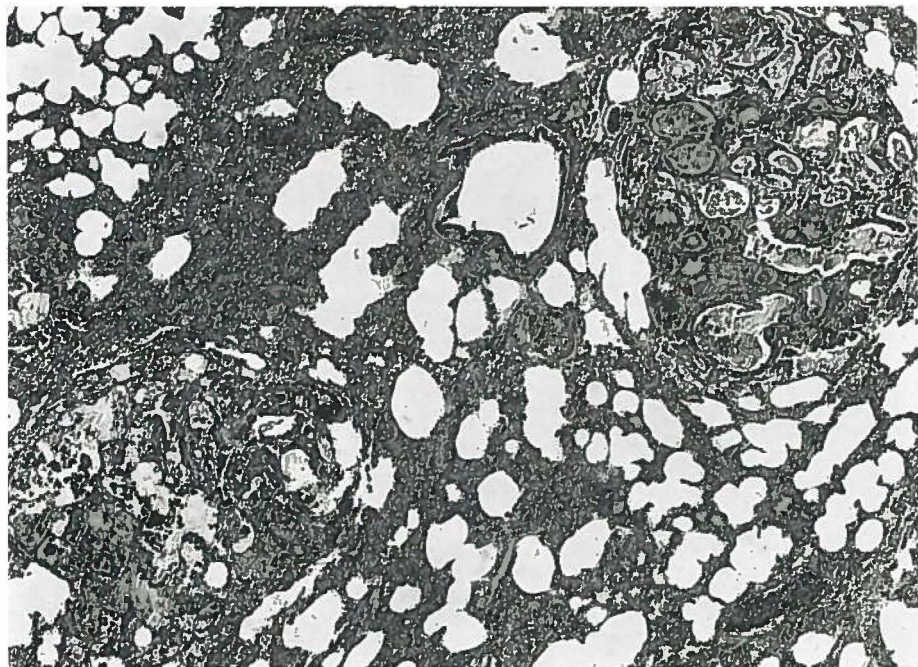


Foto 25. Longmetastasen van een adenocarcinoom. Ondanks een vrij sterke autolyse zijn in de metastasen nog duidelijke buisjesstructuren waar te nemen. 75 x.
Groep II, † 475 d.



Foto 26. Adenocarcinoom. De tumor heeft alle lagen van de maagwand doorbroken, terwijl ook buisjesgroei in de lever zichtbaar is. 17 x. Groep II, a. 519 d.

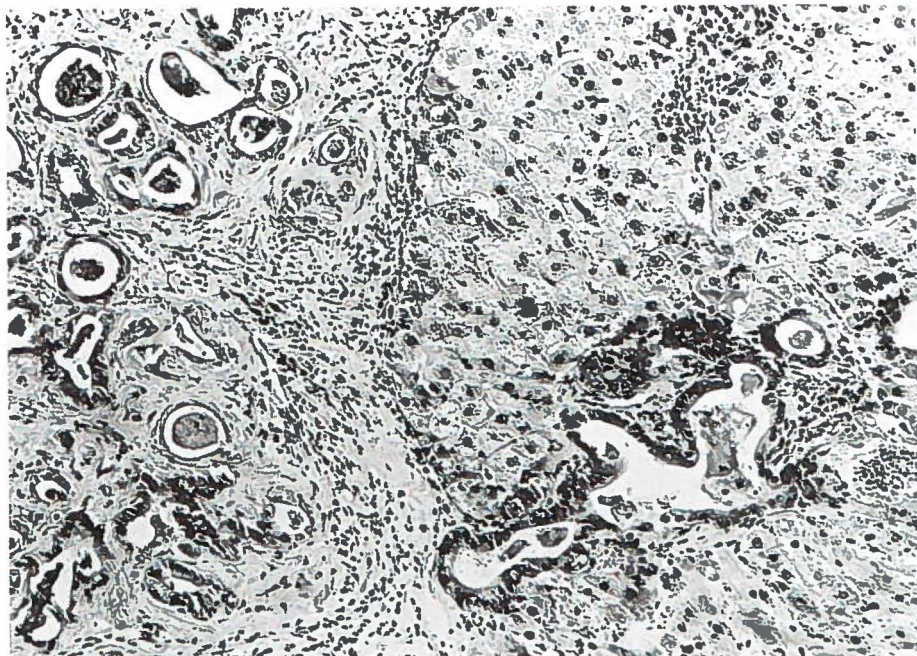


Foto 27. Detail uit het grensgebied tussen tumor en lever uit foto 26. Links het carcinoom en rechts de lever. Het onderscheid tussen galgangproliferatie en infiltratief groeiende tumorbuiscjes uit de maag is niet mogelijk. 140 x.

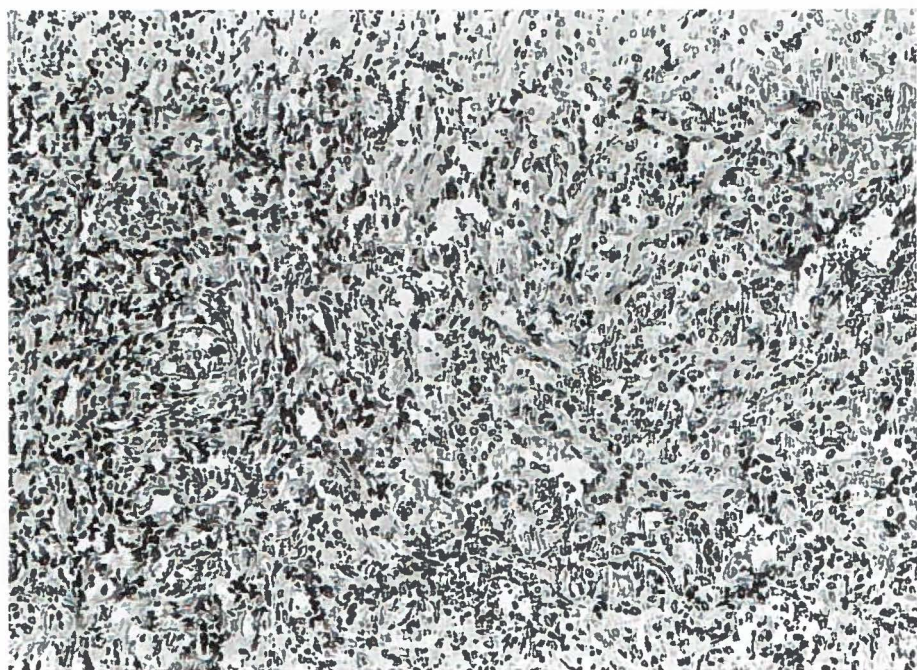


Foto 28. Anaplastisch carcinoom. Dit gezwel werd aangetroffen in de maag van dezelfde rat, bij wie ook de lesies uit foto 12 werden gevonden. Het carcinoom stond echter niet met de genoemde lesies in verbinding. 140 x. Groep II, a. 519 d.



Foto 29. Reticulinekleuring van het anaplastische carcinoom uit foto 28. Het gezwel is opgebouwd uit onregelmatige veldjes en strengetjes van cellen, omgeven door bundeltjes reticulinevezels. 140 x.

LITERATUURLIJST

- ACKERMAN, N. B. - Fundic resection in rats and its long term effect on development of gastric cancer. *Gastroenterology* 53: 280-287, 1967.
- ALEXANDER, P. - The role of tumour-specific antigens in the genesis, development and control of malignant disease. In: *The biology of cancer*. E. J. Ambrose and F. J. C. Roe, editors. London, D. van Nostrand Company Ltd., 1966.
- ANDERSON, K. W. - Some biochemical and physiological aspects of salicylate-induced gastric lesions in laboratory animals. In: *Salicylates. An international Symposium*. A. St. J. Dixon, M. J. H. Smith, B. K. Martin en P. H. N. Wood, editors. London, J. and A. Churchill Ltd., 1963.
- ANDERSON, K. W. - Further studies on aspirin induced gastric lesions in the guinea-pig. *Arch. int. Pharmacodyn.* 157: 181-192, 1965.
- ARFFMANN, E. - Heated fats and allied compounds as carcinogens: a critical review of experimental results. *J. Nat. Cancer Inst.* 25: 893-926, 1960.
- ARKHIPOV, G. N. - Induction of cancer of the glandular stomach in rats by 20-Methylcholanthrene. *Int. J. Cancer* 2: 494-499, 1967.
- BABA, T., Y. MISU en S. TAKAYAMA - Induction of cancer of the glandular stomach in a rat: a new form of experiment. *Gann* 53: 381-387, 1962.
- BALNER, H. en H. DERSJANT. - Increased oncogenic effect of methylcholanthrene after treatment with Anti-lymphocyte serum. *Nature* 224: 376-378, 1969.
- BOCK, F. G. en D. W. KING - A study of the sensitivity of the mouse forestomach toward certain polycyclic hydrocarbons. *J. Nat. Cancer Inst.* 23: 833-839, 1959.
- BRODIE, D. A. en B. J. CHASE - Role of gastric acid in aspirin-induced irritation in the rat. *Gastroenterology* 53: 604-610, 1967.
- BULLOCK, F. D. en M. R. CURTIS - Spontaneous tumors of the rat. *J. Cancer Res.* 14: 1-115, 1930.
- BULLOCK, F. D. en G. L. ROHDENBURG (geciteerd door Klein en Palmer, 1941). *J. Cancer Res.* 3: 227, 1918.
- BUTLER, W. H. en J. M. BARNES - Toxic effects of groundnut meal containing aflatoxin to rats and guinea-pigs. *Brit. J. Cancer* 17: 699-710, 1963.
- BUTLER, W. H. en J. M. BARNES - Carcinoma of the glandular stomach in rats given diets containing aflatoxin. *Nature* 209: 90, 1966.
- CASTANERA, T. J., D. C. JONES, D. J. KIMELDORF en V. J. ROSEN - The influence of whole-body exposure to X-rays or neutrons on the life span distribution of tumors among male rats. *Cancer Res.* 28: 170-182, 1968.
- CHU, E. W. en R. A. MALMGREN - An inhibitory effect of vitamin A on the induction of tumors of forestomach and cervix in the Syrian Hamster by carcinogenic polycyclic hydrocarbons. *Cancer Res.* 25: 884-895, 1965.
- COTCHIN, E. - in „Discussion“ achter het artikel van U. F. Rowlatt (1967).
- CRAIN, R. C. - Spontaneous tumors in the Rochester Strain of the Wistar rat. *Amer. J. Path.* 34: 311-335, 1958.
- DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, S. IVANKOVIC en D. SCHMAHL - Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitrosoverbindungen an B. D.-Ratten. *Z. Krebsforsch.* 69: 103-201, 1967.

- DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC, J. BÜCHELER, R. PREUSSMANN en C. THOMAS - Erzeugung von Magen- und Pankreas-Krebs beim Meer-schweinchen durch Methylnitrosoharnstoff und -urethan. *Z. Krebsforsch.* 72: 167-182, 1968.
- EMMELOT, P. - Chemische carcinogenese. In: *Jaarboek kankeronderzoek en kankerbestrijding 1965*. Amsterdam, J. H. de Bussy, 1965.
- FIBIGER, J. - (geciteerd door Stewart, 1953). Untersuchung über eine Nematode (*Spiroptera* sp.n.) und deren Fähigkeit, papillomatoïde und carcinomatoïde Geschwulstbildungen im Magen der Ratte hervorzurufen. *Z. Krebsforsch.* 13: 217-280, 1913.
- FISHLER, J. J., - Effect of aspirin on the gastric mucosa. *Small Animal Clinician* 39: 40, 1963.
- FISHLER, J. J. - Effects of aspirin, acetaminophen and salicylamide on gastric mucosa of dogs. *Am. J. Dig. Dis.* 9: 465-470, 1964.
- FORTNER, J. G. - Spontaneous tumors, including gastrointestinal neoplasms and malignant melanomas in the Syrian hamster. *Cancer* 10: 1153-1156, 1957.
- GRANT, R. en A. C. IVY - The abnormal and invasive growths following the implantation of hydrocarbon carcinogens in the gastric submucosa of the rat. *Gastroenterology* 29: 199-218, 1955.
- GRANT, R. - Cancer induction in the glandular stomach of rats at sites of implanted 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene. *J. Nat. Cancer Inst.* 37: 353-364, 1966.
- GUÉRIN, M. - Tumeurs spontanées des animaux de laboratoire. p. 124-125. Paris, Amédée Legrand, 1954.
- HARE, W. V., H. L. STEWART, J. G. BENNETT en E. LORENZ - Tumors of the glandular stomach induced in rats by intramural injection of 20-Methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 12: 1019-1055, 1952.
- HIROSE, F. - Induction of gastric adenocarcinoma in mice by localized X-irradiation. *Gann* 60: 253-260, 1969.
- HITCHCOCK, C. R. - (geciteerd door Stewart 1967). Attempts to abet the action of methylcholanthrene in the induction of gastric cancers in mice using dietary chemical additives and dietary deficiencies. A thesis. Dept. Surgery of the Graduate School, The University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, 1954.
- HOWES, E. L. en J. R. DE OLIVEIRA - Early changes in experimentally produced adenomas and adenocarcinomas of the stomach. *Cancer Res.* 8: 419-428, 1948.
- HURLEY, J. W. en L. A. CRANDALL Jr. - The effect of various salicylates upon the dog's stomach: a gastroscopic photographic evaluation. In: *Salicylates. An international Symposium*. A. St. J. Dixon, M. J. H. Smith, B. K. Martin en P. H. N. Wood, editors. London, J. and A. Churchill Ltd., 1963.
- KIM, U. - Factors controlling metastasis of experimental breast cancer. *Cancer Res.* 26: 461-464, 1966.
- KIM, U. - Metastasizing mammary carcinomas in rats: induction and study of their immunogenicity. *Science* 167: 72-74, 1970.
- KLEIN, A. J. en W. L. PALMER - Experimental gastric carcinoma. A critical review with comment on the criteria of induced malignancy. *Arch. Path.* 29: 814-844, 1940.
- Tevens, met uitbreidingen, in: *J. Nat. Cancer Inst.* 1: 559-584, 1941.
- KLEIN, G. - Tumor-specific transplantation antigens: G. H. A. Clowes memorial lecture. *Cancer Res.* 28: 625-635, 1968.
- KLEIN, G. - Experimental studies in tumor immunology. *Fed. Proc.* 28: 1739-1753, 1969.

- KOWALEWSKI, K. en T. KASPER - Achlorhydria, gastric mucosal atrophy and gastric neoplastic lesions in rats, mice and hamsters treated with an anticholinergic drug, propantheline bromide, and a carcinogen, 20-Methylcholanthrene. *Can. J. Surg.* 10: 99-108, 1967.
- LAQUEUR, G. L. - The induction of intestinal neoplasms in rats with the glycoside cycasin and its aglycone. *Arch. path. anat.* 340: 151-163, 1965.
- LAW, L. W. - Studies of thymic function with emphasis of the role of the thymus in oncogenesis. *Cancer Res.* 26: 551-574, 1966.
- LIJINSKY, W. en S. S. EPSTEIN - Nitrosamines as environmental carcinogens. *Nature* 225: 21-23, 1970.
- MAJIMA, S., T. TAKAHASHI, T. NARISAWA en I. YAMAGUCHI - Attempt at experimental production of carcinoma in gastric ulcer. *Tohoku J. exp. Med.* 90: 277-289, 1966.
- MAJIMA, S., T. TAKAHASHI, K. YOSHIDA, K. KARUBE, T. MACHIDA, T. NARISAWA, H. HOSHI, T. HIROKI, K. ITO en Y. KURATA - Atypical epithelial proliferation in the course of experimental production of ulcer-carcinoma of the stomach. *Tohoku J. exp. Med.* 93: 363-376, 1967.
- MILLER, E. C., J. E. MILLER en M. ENOMOTO - The comparative carcinogenicities of 2-Acetylaminofluorene and its N-hydroxy metabolite in mice, hamsters and guinea-pigs. *Cancer Res.* 24: 2018-2031, 1964.
- MILLER, E. W. en F. C. PYBUS - Hyperplastic and neoplastic lesions of the glandular stomach and intestine in two inbred strains of mice and their reciprocal hybrids. *Brit. J. Cancer* 10: 89-109, 1956.
- MORGENSTERN, L. - Vagotomy, gastroenterostomy and experimental gastric cancer. *Arch. Surg.* 96: 920-923, 1968.
- MORI, K. - Carcinoma of the glandular stomach of mice by instillation of 4-Nitroquinoline-1-oxide. *Gann* 58: 389-393, 1967.
- MORI, K. en A. OHTA - Carcinoma of the glandular stomach of mice induced by 4-Hydroxyaminoquinoline-1-oxide. *Gann* 58: 551-554, 1967.
- MORI, K., A. OHTA, T. MURAKAMI, M. TAMURA en M. KONDO - Carcinoma of the glandular stomach of mice induced by 4-Hydroxyaminoquinoline-1-oxide hydrochloride. *Gann* 60: 151-154, 1969.
- MORI, K., A. OHTA, T. MURAKAMI, M. TAMURA, M. KONDO en H. ICHIMURA - Carcinomas of the glandular stomach and other organs of rats by 4-Hydroxyaminoquinoline-1-oxide hydrochloride. *Gann* 60: 627-630, 1969.
- MORRIS, H. P., B. P. WAGNER, F. E. RAY, H. L. STEWART en K. C. SNELL - Comparative carcinogenic effects of N, N'-2,7-Fluorenylenebisacetamide by intraperitoneal and oral routes of administration to rats, with particular reference to gastric carcinoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 29: 997-1011, 1962.
- NAGAYO, T. - Effect of oral administration of N, N'-2,7-Fluorenylenebisacetamide combined with traumatic ulcers of the glandular stomach of Buffalo Rats. *J. Nat. Cancer Inst.* 35: 829-840, 1965.
- NOMOTO, K. en K. TAKEYA - Immunologic properties of methylcholanthrene-induced sarcomas of neonatally thymectomized mice. *J. Nat. Cancer Inst.* 42: 445-453, 1969.
- NOWELL, P. C., L. J. COLE en M. E. ELLIS - Neoplasms of the glandular stomach in mice irradiated with X-Rays of fast neutrons. *Cancer Res.* 18: 257-260, 1958.
- ODASHIMA, S. - Effects of 7.12-Dimethylbenz[a]anthracene placed in an artificial diverticulum of the glandular stomach combined with feeding of N, N'-2,7-Fluorenylenebisacetamide to rats. *Gann Monogr.* 3: 81-85, 1968.

- ODASHIMA, S. - Experimental carcinoma of the glandular stomach in Rats. I. Effect of 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene or 4-Nitroquinoline-1-oxide placed on glandular stomach combined with oral administration of N, N'-(2,7-Fluorenylene)bisacetamide or N-Nitrosodiethylamine. *Gann* 60: 211-222, 1969.
- OETTL, A. G. - Spontaneous carcinoma of the glandular stomach in *Rattus (Mastomys) natalensis*, an African rodent. *Brit. J. Cancer* 11: 415-433, 1957.
- PLANTEYDT, H. T. - Maag en maagcarcinoom. Academisch proefschrift, Leiden, 1961.
- ROTH, J. L. A. en A. VALDES-DAPENA - Topical action of salicylates on the buccal mucosa in man and on the stomach in cats. In: *Salicylates. An international Symposium*. A. St. J. Dixon, M. J. H. Smith, B. K. Martin en P. H. N. Wood, editors. London, J. and A. Churchill Ltd., 1963.
- ROWLATT, U. F. - Neoplasms of the alimentary canal of Rats and Mice. In: *Pathology of Laboratory Rats and Mice*. E. Cotchin en F. J. C. Roe, editors. Oxford and Edinburgh, Blackwell Scientific Publications, 1967.
- SALMON, W. D. en D. H. COPELAND - The occurrence of gastric lesions in the rat as a result of feeding Tributyrin. *J. Nat. Cancer Inst.* 10: 361-365, 1949.
- SCHOENTAL, R. - Induction of tumours of the stomach in rats and mice by N-nitroso-N-alkylurethanes. *Nature* 199: 190, 1963.
- SCHOENTAL, R. en J. P. M. BENSTED - Gastro-intestinal tumours in rats and mice following various routes of administration of N-Methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine and N-Ethyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine. *Brit. J. Cancer* 23: 757-764, 1969.
- SKORYNA, S. C. en A. C. RITCHIE - The experimental production of adenocarcinoma of the stomach in rats. *Gastroenterology* 39: 737-746, 1960.
- SNELL, K. C. - Adenocarcinoma of the glandular stomach in *Mastomys*. In: *Carcinoma of the alimentary tract*. W. J. Burdette, editor. Salt Lake City, Utah, University of Utah Press, 1965.
- SNELL, K. C. en H. L. STEWART - Malignant argyrophilic gastric carcinoids of *Praomys (Mastomys) natalensis*. *Science* 163: 470, 1969.
- SOLOV'EV, A. A., E. D. KLIMENKO, N. A. NILOVA en O. M. POZDNYAKOV - Experimental production of precancer and cancer of the stomach. *Trans Supp. T.* 1245-T. 1247, *Fed. Proc.* 22: 11, 1963.
- STEWART, H. L. en E. LORENZ - Induction of adenocarcinoma of the pyloric stomach in mice by methylcholanthrene (Preliminary report). *J. Nat. Cancer Inst.* 2: 193-196, 1941.
- STEWART, H. L. en E. LORENZ - Adenocarcinoma of the pyloric stomach and other gastric neoplasms in mice induced with carcinogenic hydrocarbons. *J. Nat. Cancer Inst.* 3: 175-189, 1942.
- STEWART, H. L., W. V. HARE, E. LORENZ en J. G. BENNETT - Adenocarcinoma and other lesions of the glandular stomach of mice following intramural injection of 20-Methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 10: 359-360, 1949.
- STEWART, H. L. - Experimental cancer of the alimentary tract. In: *The Pathology of Cancer*. F. Homburger en H. W. Fishman, editors. New York, Paul B. Hoeber Inc., 1953.
- STEWART, H. L., W. V. HARE en J. G. BENNETT - Tumors of the glandular stomach induced in mice of six strains by intramural injection of 20-Methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 14: 105-125, 1953.
- STEWART, H. L., K. C. SNELL en W. V. HARE - Histopathogenesis of carcinoma induced in the glandular stomach of C57BL mice by the intramural injection of 20-Methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 21: 999-1035, 1958.
- STEWART, H. L. - Experimentally induced cancer of the stomach. *Acta Un. Int. Contr. Cancr.* 17: 296-301, 1961.

- STEWART, H. L., K. C. SNELL, H. P. MORRIS, B. P. WAGNER en F. E. RAY - Carcinoma of the glandular stomach of rats ingesting N, N'-2,7-Fluorenylenebisacetamide. N.C.I. Monogr. No. 5: 105-139, 1961.
- STEWART, H. L., K. C. SNELL en H. P. MORRIS - The combined effect of 3-Methylcholanthrene and N, N'-2,7-Fluorenylenebisacetamide on the induction of cancer of the glandular stomach in the rat. J. Nat. Cancer Inst. 34: 157-174, 1965.
- STEWART, H. L. - The Harold Dorn memorial lecture. Site variation of alimentary tract cancer in Man and experimental animals as indicators of diverse etiology. In: U.I.C.C. Monogr. series vol. 9. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1967. (Eveneens in: N.C.I. Monogr. 25: 199-217, 1967).
- SUGIMURA, T. en S. FUJIMURA - Tumour production in glandular stomach of rat by N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. Nature 216: 943-944, 1967.
- TAYLOR, L. A. en L. M. CRAWFORD - Aspirin-induced gastrointestinal lesions in dogs. J. Am. Vet. Med. Ass. 152: 617-619, 1968.
- UPTON, A. C., A. W. KIMBALL, J. FURTH, K. W. CHRISTENBERRY en W. H. BENEDICT - Some delayed effects of atom-bomb radiations in mice. Cancer Res. 20 (2) 1-60, 1960. (Geciteerd door Rowlatt, 1967).
- WELLS, H. G., M. SLYE en F. HOLMES - Comparative pathology of cancer of the alimentary canal, with report of cases in mice. Amer. J. Cancer 33: 223-238, 1938.
- WOGAN, G. N. - Naturally occurring carcinogens in foods. In: Progr. exp. Tumor Res. vol. 11 p. 134-162. Basel-New York, Karger, 1969.
- WONG, R. L. en R. GRANT - The response to intramural gastric implantation of 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene with Gelfoam in rats. Lab. Invest. 14: 2110-2121, 1965.
- ZALDIVAR, R. S. d. - Gastric carcinogenesis in the guinea-pig. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 5: 71, 1964.